

SÉRIE A,
N° 4249
N° D'ORDRE
5100

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Simone ORBACH, née ARBOUYS

**1^{re} THÈSE : Étude des phénomènes immunologiques provoqués
par des greffes de divers types.**

2^e THÈSE : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le **19 JUIN 1964**

devant la Commission d'examen.

M. PRENANT	<i>Président</i>
M ^{lle} LE BRETON	} <i>Examineurs</i>
M. TH. LENDER	

LONS - LE - SAUNIER
IMPRIMERIE MAURICE DECLUME

1964

SÉRIE A,
N° 4249
N° D'ORDRE
5100

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Simone ORBACH, née ARBOUYS

1^{re} THÈSE : Étude des phénomènes immunologiques provoqués
par des greffes de divers types.

2^e THÈSE : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

devant la Commission d'examen.

M. PRENANT	<i>Président</i>
M ^{lle} LE BRETON	<i>Examineurs</i>
M. TH. LENDER	

LONS - LE - SAUNIER
IMPRIMERIE MAURICE DECLUME

1964



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen M. ZAMANSKY.

G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	CHAMPETIER	T Chimie macromoléculaire.
PRENANT	T Anatomie et Histologie comparées.	CUVILLIER	T Micropaléontologie.
GRASSÉ	T Evolution des êtres organisés.	JUNG	T Géologie.
PRÉVOST	T Chimie organique.	TRILLAT	T Microscopie et diffraction électronique.
WYART	T Minéralogie et Cristallographie.	WIEMANN	T Chimie organique structurale.
TEISSIER	T Zoologie.	JACQUINOT	T Spectroscopie et physique céleste (Orsay).
MANGENOT	T Biologie végétale (Orsay).	VASSY	T Physique de l'atmosphère.
AUGER	T Physique quantique et relativité.	DESTOUCHES	T Théories physiques.
MONNIER	T Physiologie générale.	AMIEL	T Chimie génér.
PIVETEAU	T Paléontologie.	HOCART	T Minéralogie et Cristallographie.
ROCARD	T Physique (E.N.S.).	J.-P. MATHIEU	T Physique (Optique.)
CARTAN	T Mathématiques (E.N.S.).	COUTEAUX	T Cytologie.
LAFFITTE	T Chimie générale.	MAY	T Zoologie (Orsay)
FAVARD	T Géométrie supérieure.	CHOUQUET	T Théor. des fonct. et topologie.
COULOMB	T Physique du globe.	FELDMANN	T Biologie végétale marine.
M ^{lle} COUSIN	T Biologie anim. (S.P.C.N.)	GUINIER	T Physique des solides (Orsay).
CHRÉTIEN	T Chimie minérale.	JOST	T Physiol. comparée.
P. DRACH	T Zoologie.	FORTET	T Calcul des probabilités et Phys. math.
KASTLER	T Physique (E.N.S.)	SCHWARTZ	T Calcul différentiel et intégral.
EPHRESSI	T Génétique.	CHOUARD	T Physiologie Végétale.
RIVIÈRE	T Géologie (S.P.C.N.) et sédim. (Orsay).	MALAVARD	T Aviation (Tech. aéronaut).
GAUTHERET	T Biologie végét. (P.C.B.).	BRELOT	T Calcul différentiel et intégral.
LUCAS R.	T Recherches physiques.	NORMANT	T Synthèse organique.
THOMAS A.	T Biologie cellulaire.	BENARD	T Chimie minérale.
ARNULF	T Optique appliquée.	BUVAT	T Botanique (E.N.S.)
MORAND	T Physique Enseignement.	DUGUE	T Statistiques Math.
SOLEILLET	T Physique. (P.C.B.)	SOULAIRAC	T Psychophysiologie.
FORTIER	T Mécanique expérimentale des fluides.	ULRICH	T Physiol. végétale appl.
PETIT	T Biologie maritime.	MARÉCHAL	T Optique théorique et appl.
QUENY	T Météorologie et dynamique atmosphérique.	KIRRMANN	T Théories chimiques.
GALLIEN	T Embryologie	CHADEFAUD	T Botanique.
EICHHORN	T Botanique.	M ^{lle} LE BRETON	T Physiologie de la nutrition.
DE CUGNAC	T Biologie végét. (S.P.C.N.)	LELONG	T Application de l'analyse à la géométrie.
M ^{lle} CAUCHOIS	T Chimie-Physique.	DEVILLERS	T Anatomie et Histologie comparées.
THELLIER	T Physique du Globe.	EHRESMANN	T Topologie algébrique.
L'HÉRITIER	T Biologie générale (Orsay).	FRANÇON	T Physique (S.P.C.N.).
GRIVET	T Radioélectricité (Orsay).	GLANGEAUD	T Géographie physique et Géologie.
PONCIN	T Mécanique générale.	GODEMENT	T Mathématiques (M.G.P.).
DUBREIL	T Arithmétique et théorie des nombres.		
QUELET	T Chimie organique.		
CAGNIARD	T Géophysique appliquée.		

PISOT	T	Technique mathématique de la physique.	DENY	T	Mathématiques générales (Orsay).
ROCH	T	Géologie.	GERMAIN P.	T	Mécanique théorique des fluides.
SCHATZMANN	T	Astrophysique.	LUCAS G.	T	Géologie.
TERMIER	T	Géologie générale.	ALLARD	T	Chimie physique.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.	BERTHELOT	T	Phys. des particules fondamentales (Orsay).
LENNUIER	T	Physique (M.G.P.).	BRICARD	T	Météorologie et physique de l'atmosphère.
RIZET	T	Génétique (Orsay).	Mme ALBE- FESSARD	T	Psycho-physiologie.
ROUTHIER	T	Géologie appliquée.	FRIEDEL	T	Physique des solides (Orsay).
Mme TONNELAT ..	T	Physique théorique.	M. JULIA	T	Études des moléculaires complexes.
DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C)	LENDER	T	Biologie animale (S.P.C.N.) Orsay.
SOUCHAY	T	Chimie générale.	MAGAT	T	Physico-chimie des radio-éléments
AIGRAIN	T	Electrotechnique générale.	Mlle QUINTIN ...	T	Electrochimie.
BRUSSET	T	Chimie systématique.	MONOT	T	Chimie du métabolisme.
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies. (Orsay).	BENOIT	T	Physiologie animale (Orsay).
Mme CHAIX	T	Chimie biologique.	DE POSSEL	T	Analyse numérique.
Mme HUREL-PY ...	T	Biologie végétale (P.C.B).	CHARLOT	T	Chimie analytique.
PIAUX	T	Chimie (M.P.C.).	LEMEE	T	Ecologie Vég. (Orsay).
BRUN	T	Mécanique théorique des fluides.	GUERIN	T	Chimie (M.P.C.) (Orsay)
LEDERER	T	Chimie biologique (Orsay).	CHATELET M.	T	Chimie (P.C.B.).
Mme DUBREIL ...	T	Mathématiques (Agrégation).	JEAN	T	Physique nucléaire (Orsay)
Mme LELONG	T	Mathémat. II (E.N.S.)	MATTLER	T	Physique (S.P.C.N.).
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.).	BERGERARD	T	Zoologie (Orsay).
COTTE	T	Physique électricité.	BERTEIN	T	Electronique (Orsay).
DUBOIS J.-E.	T	Chimie organique.	BOUISSIERES	T	Radiochimie.
LAMOTTE	T	Zoologie (E.N.S.).	Mme COUTURE ...	T	Thermodynamique et Mécan. physique.
MICHEL A.	T	Chimie minérale (Orsay).	ELLENBERGER	T	Géologie des grandes régions du globe.
OLMER	T	Energétique générale.	FRANC.	T	Biologie animale (P.C.B.)
ROUAULT	T	Electricité (Orsay).	SCHNELL	T	Botanique tropicale.
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.	STOLKOWSKI.	T	Physiologie végétale.
BARCHEWITZ	T	Chimie physique.	ACHER.	T	Chimie biologique.
BROSSEL	T	Physique atomique.	BAUDOIN	T	Biologie animale (P.C.B.).
BUSER	T	Physiologie comparée.	BEAUMONT	T	Biologie animale (S.P.C.N.).
CAMUS	T	Physiologie végétale (Orsay).	BLAMONT	T	Géophysique Ionosphère
CASTAING	T	Phys. II Thermo (Orsay)	BOURREAU	T	Botanique.
CURIEN	T	Minéralogie et Cristallographie.	CURIE D.	T	Physique (M.G.P.).
MOYSE	T	Physiologie végétale (Orsay).	DURAND-DELGA ..	T	Géologie.
NOIROT	T	Evolution des êtres organisés.	FREON	T	Chimie organique (Orsay).
PANNETIER	T	Chimie générale.	HELLER	T	Physiologie végétale.
POSSOMPES	T	Zoologie.	TORTRAT	T	Calcul des Probabilités.
PULLMANN	T	Chimie quantique.	CAILLEUX	T	Géologie (S.P.C.N.).
TEILLAC	T	Physique nucléaire et radioactivité (Orsay).	MAGNAN	T	Physique (S.P.C.N.).
TONNELAT	T	Biologie physico-chimique (Orsay).	DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire appliquée à la Chimie théor. et la Phys. nucléaire.
VILLE	T	Econométrie.	Mlle FOURCROY ...	T	Biologie végétale (S.P.C.N.).
WILLEMART	T	Chimie (P.C.B.).	Mme CHOQUET-BRU- HAT	T	Méc. analytique et Méc. céleste.
DODÉ	T	Chimie (Orsay).	Mlle VIEL	T	Physiologie générale.
FREYMANN	T	Recherches physiques.	LWOFF	T	Microbiologie.
GUINOCHE	T	Biologie vég. S.P.C.N. (Orsay).	SIESTRUNCK	T	Mécan. physique et expérimentale.
ROLLET	T	Chimie minérale.			
Mlle JOSIEN	T	Chimie S.P.C.N.			
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes.			
ARNOULT	T	Electronique (Orsay).			
CHAPELLE	T	Physique I (Orsay).			
DELANGE	T	Mathématiques I (Orsay).			

LACOMBE	T Métallurgie des métaux nucléaires (Orsay).	GUILBERT	Physique (CUS Orléans).
BROCHARD	T Physique (P.C.B.) (Orsay).	HUPE	T Pétrographie.
CABANNES	T Mécanique générale.	HOLLANDE	T Biologie générale.
LESIEUR	T Mathématiques (Orsay).	LIONS	T Analyse numérique.
MAZET	T Mécanique générale (Orsay).	MAITTE	T Chimie PCB.
CAIRE	Géographie physique et Géologie dyn.	MEYER	Physique propédeutique.
COMOLET	T Mécanique des Fluides.	NICOLAS	Géologie appliquée.
GORABCEUF	T Physiologie animale (Orsay).	PANIGEL	Biologie générale.
DELLOUE	Physique de l'Exosphère.	RAVIER	T Pétrographie.
GORENFLOT	Botanique II (Orsay).	ROSEAU	T Méca. théor. des fluides.
HOUILLOIN	Biologie animale (P.C.B.).	ROUBINE	T Electronique.
JULLIEN J.	Chimie SPCN (Orsay).	SILBER	T Chimie PCB.
MALGRANGE	T Technique mathématique de la Phys. (Orsay).	UEBERSFELD	T Electronique.
OLIVIER	Anthropologie.	YVON	T Théories Physiques.
NOZERAN	T Botanique II (Orsay).	HERVE	T Mathématiques.
BLANC-LAPIERRE ..	T Physique (E.N.S.) (Orsay).	NERON	T Mathémat. MPC (Orsay).
CHEVAUGEON	T Botanique (Orsay).	Mme PECKER- WIMEL	T Astrophysique.
KAHANE	T Mathématiques (Orsay).	BALKANSKY	Physique MPC.
SAMUEL	T Mathématiques ENS féminines.	LE CORRE	T Electricité.
KOURGANOFF	T Astronomie (Orsay).	DELCROIX	T Physique théorique (Orsay).
THIRY	T Mécanique céleste.	GOURDIN	Phys. Théor. des Hautes-Energies (Orsay).
ABELES	Physique SPCN.	LEHMANN	T Phys. Exp. des Hautes-Energies (Orsay).
AMAT	T Physique PCB.	NATAF	T Physique nucléaire et radioactivité (Orsay).
AUBOIN	T Géologie.	ECHALIER	Biologie animale PCB.
Mme BENOIT-GUEUTAL	T Phys. Nucléaire et radioactivité (Orsay).	BARRAUD	Physiologie cellulaire.
BOUGIS	Biologie marine (Villefranche-sur-Mer.).	LIORET	Physiologie végét. Orsay.
BRUHAT	T Mathématiques MPC.	DARS	Géologie struc. et Geol. appliquée.
BBUNN	T Géologie historique (Orsay).	CAMEFORT	T Botanique (aggrégation).
CHABRAL	T Physique MGP (Orsay).	VICHNIEWSKY	T Mécanique industrielle.
DEHEUVELS	T Mathématique Propé.	BLAQUIERE	Electronique (Orsay).
D'ESPAGNAT	T Physique théorique (Orsay).	ARNOUS	T Physique théorique.
FURON	T Géologie SPCN.	TATIBOUET	Chimie (CSU Orléans).
Mme GANS	T Génétique.	MALLIAVIN	T Mathématique propé. Orsay.
GENEVES	Biologie végétale PCB.	GAUDEMAR	Chimie Propéd.
		PEREZ Y JORBA	Phys. Exp. des Hautes énergies (Orsay).
		DAVID	T Chimie (Agrég. Orsay).
		BROUSSE	T Mécanique théorique.

Secrétaire Général..... R. POULLAIN.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A MA MERE

A MES FILLES, EMMANUELLE ET CAMILLE

ET A MON MARI

A TOUS LES MIENS

A MONSIEUR PRENANT

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES

qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse, en témoignage de notre respectueuse reconnaissance.

A MADemoisELLE LE BRETON

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES

DIRECTEUR DU CENTRE DE RECHERCHES SUR LA CELLULE NORMALE
ET CANCÉREUSE DU C.N.R.S.

avec l'assurance de notre profonde reconnaissance pour ses conseils bienveillants et pour l'intérêt qu'elle nous a toujours manifesté au cours de ces recherches.

A MONSIEUR LENDER

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES

qui a bien voulu s'intéresser à notre travail et nous faire d'utiles suggestions, nous lui exprimons nos sincères remerciements.

A MONSIEUR LE DOCTEUR MONSAINGEON

CHIRURGIEN-CHEF A L'HÔPITAL PAUL BROUSSE

en témoignage de notre reconnaissance pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son service, l'affectueuse bienveillance qu'il n'a cessée de nous témoigner et les précieux encouragements qu'il nous a donnés au cours de ce travail.

A MONSIEUR LE DOCTEUR DELARUE

PROFESSEUR D'ANATOMO-PATHOLOGIE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

MÉDECIN-CHEF DE L'HÔPITAL PAUL BROUSSE

qui a souhaité le développement de la recherche médicale dans le cadre de l'Hôpital Paul Brousse et a mis à notre disposition des moyens de travail les plus généreux, le témoignage de notre respectueuse admiration.

AU DOCTEUR BYRON H. WAKSMAN

PROFESSEUR A YALE UNIVERSITY, CONNECTICUT U.S.A.

en souvenir du travail fait sous sa direction, avec une méthode et une rigueur qui ont fait notre admiration et nous ont servi de guide depuis lors, l'expression de notre profonde reconnaissance.

A MONSIEUR LE DOCTEUR EYQUEM
CHEF DE LABORATOIRE A L'INSTITUT PASTEUR

qui nous a aidé à mener à bien ce travail en nous guidant au milieu de nos difficultés, nous lui exprimons nos sincères remerciements.

A MONSIEUR LE DOCTEUR TANRET
MÉDECIN DES HÔPITAUX
DIRECTEUR DE RECHERCHES A L'INSTITUT NATIONAL D'HYGIÈNE

qui a bien voulu s'intéresser à notre travail et nous a toujours témoigné la plus grande des bienveillances, en témoignage de notre sincère admiration.

A MONSIEUR LE DOCTEUR PIETTE
PHARMACIEN-CHEF DES HÔPITAUX
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE PHARMACIE

qui fut notre maître d'Internat et sous la direction de qui nous avons acquis une expérience pratique des plus précieuses, avec l'expression de notre profond respect.

SOMMAIRE.

INTRODUCTION	13
PREMIÈRE PARTIE : <i>Etude de la parabiose hétérospécifique</i>	16
Chapitre I. — <i>Evolution de la parabiose et son incidence sur des constantes biologiques des animaux ainsi unis.</i>	
1) Matériel et méthodes	17
2) Courbes de survie	18
3) Mise en évidence d'un échange de liquides entre les deux animaux	20
4) Toxicité aiguë des sérums hétérologues	21
5) Etude des hétéro-agglutinines naturelles	21
6) Etude des hétéro-agglutinines formées au cours de la parabiose	22
7) Variations hématologiques observées dans la parabiose rat-cobaye	24
8) Etude électrophorétique des sérums prélevés au cours et en fin de parabiose	25
Chapitre II. — <i>Influence de différents traitements sur l'évolution de la parabiose.</i>	
1) Administration de substances polyosidiques	27
2) Parabiose entre rat et cobaye immunisé avec du sang de rat	31
3) Parabiose entre rat recevant de la substance polyosidique et cobaye immunisé, avec du sang de rat, et recevant également de la substance polyosidique.	32
4) Séparation des animaux après 4 jours de parabiose.	34
5) Influence de la cortisone	34
6) Influence des antihistaminiques	34
7) Influence des gamma globulines humaines	38
8) Influences des antimétabolites	39
Chapitre III. — <i>Influence des différents traitements sur les constantes biologiques des animaux.</i>	
1) Variations hématologiques observées dans la parabiose rat-mérion traitée par le Phénergan	41
2) Etude électrophorétique des sérums prélevés chez les animaux diversement traités	42
3) Hétéro-hémagglutinines au cours de la parabiose faite après injection de substances polyosidiques ..	42
Conclusions de la 1 ^{re} partie	43

DEUXIÈME PARTIE : *Réactions sériques mises en évidence après injection de globules rouges à différentes espèces animales. Influence des antimétabolites.*

Chapitre I. — *Formation des hétérohémagglutinines chez divers animaux de laboratoire.*

Protocole	45
Technique de titrage	46
Résultats	47

Chapitre II. — *Influence des antimétabolites sur la formation des hétérohémagglutinines.*

Protocole	50
Résultats	51
Discussion des résultats obtenus chez le Poulet	55
Discussion des résultats obtenus chez le lapin, le cobaye et le rat	57

Chapitre III. — *Modification des protéines sériques sous l'influence de l'immunisation par des globules rouges humains et de l'administration d'antimétabolites.*

Techniques	59
Résultats	61

Conclusions de la 2 ^e partie	61
---	----

TROISIÈME PARTIE : *Etude de l'action des antimétabolites sur les homogreffes.*

Chapitre I. — *Evolution spontanée de l'homogreffe cutanée chez le cobaye.*

Technique	62
Conclusions de l'examen macroscopique et histologique	63

Chapitre II. — *Influence de divers antimétabolites sur l'évolution des homogreffes.*

Historique	64
Résultats personnels	67
Conclusions de la 3 ^e partie	68

CONCLUSIONS GÉNÉRALES	69
-----------------------------	----

INTRODUCTION.

Parmi les manifestations immunologiques d'un organisme, certaines sont bien connues du point de vue de la pathologie expérimentale ou humaine, comme par exemple : l'immunité bactérienne ou virale, parfois naturelle, en général induite par une injection ou par une vaccination ; les phénomènes d'allergie ou de sensibilisation. Par contre, d'autres ne sont pas complètement élucidés et ont fait l'objet des recherches de ces quinze dernières années. Nous pouvons citer comme exemple les phénomènes d'auto-immunisation.

Une question qui conserve tout son intérêt malgré des acquisitions récentes nombreuses, est celle des greffes. Le domaine d'application des greffes est considérable. Les problèmes qu'elles posent et qui dans certains cas encore restent entiers, sont de deux ordres, technique et immunologique.

Les problèmes techniques sont très variables, selon les cellules, les tissus ou les organes envisagés. C'est ainsi que l'on demande à la greffe de tissus osseux, d'avoir un rôle de soutien. La greffe de cornée doit remplacer une zone de cornée opaque, par un fragment de cornée normale. Celle de glande endocrine doit donner à un organisme des cellules vivantes et capables de fournir une sécrétion hormonale.

Le problème des grandes pertes de substances lors de brûlures étendues pourrait être résolu par de larges greffes cutanées qui assureraient une barrière contre l'infection et contre la déperdition de liquides, permettant ainsi de lutter contre les phénomènes de choc observés après les brûlures étendues et les menaces de septicémie en période secondaire.

La greffe de cellules hématopoïétiques consiste en une injection intraveineuse de cellules qui vont se répartir dans la moelle osseuse de certains os.

De plus, l'étude du développement d'un tissu étranger greffé à un organisme est la base de la cancérologie expérimentale. Le cancer peut être considéré comme le développement anarchique d'une cellule anormale et la cancérologie expérimentale est à la recherche de tumeurs qui se développent chez l'animal dans des conditions constantes et reproductibles. La greffe de tumeur humaine à l'animal lorsque le développement ultérieur chez ce dernier est possible, est faite avec l'espoir d'obtenir des lésions possédant les caractères histologiques, biologiques et la susceptibilité thérapeutique des tumeurs originelles. Le passage d'animal à animal d'une tumeur donnée permet de conserver la souche. On travaille donc soit en système hétérologue (tumeur humaine transplantée chez l'animal, tumeur d'une espèce transplantée chez une autre espèce), soit en système homologue (passage avec

ou sans adaptation entre souches différentes de souris, de rat ou de hamster), soit en système isologue (conservation de la tumeur par transfert entre animaux de souche pure).

Les cellules tumorales possèdent à la fois les antigènes présents dans toute cellule normale et des antigènes particuliers n'existant que dans les tissus cancéreux. La greffe de cellules tumorales à un animal va déclencher une réponse à la fois vis-à-vis des antigènes normaux et des antigènes tumoraux, qui interviendra dans le développement de la tumeur.

Les problèmes immunologiques sont variables selon les conditions génétiques qui relient le greffon et son hôte. Différents cas peuvent se présenter selon les protocoles expérimentaux.

- On parle — d'autogreffe, si le greffon est transféré sur le même individu ;
- isogreffe, si le greffon est transféré sur un individu différent, de même lignée ou souche pure ;
 - homogreffe, s'il s'agit d'un individu différent de la même espèce ;
 - hétérogreffe, s'il s'agit d'un individu d'une espèce différente.

Les autogreffons « prennent » toujours et survivent indéfiniment.

Les greffons échangés entre jumeaux monozygotes représentent un cas particulier : ils évoluent de la même façon que les autogreffons. Les hétérogreffes ne réussissent jamais.

Quant aux homogreffes, après un succès éphémère, elles sont le siège d'une action irrémédiable qui les conduit à la nécrose. Il est évident que ce sont précisément ces greffes d'individu à individu qui présentent un intérêt majeur pour la clinique humaine, tout au moins dans un premier stade d'application et tant que nos connaissances ne nous permettent pas d'envisager l'utilisation d'hétérogreffes, l'obtention beaucoup plus aisée.

On sait à l'heure actuelle que certaines conditions favorables sont liées à l'état du receveur.

C'est ainsi que l'on observe une certaine tolérance à la greffe si le sujet est agama-globulinémique ou urémique. Cependant, les moutons qui, à leur naissance, sont agamma-globulinémiques, rejettent les homogreffes dans les mêmes conditions que les autres animaux.

Les sujets atteints de maladie de Hodgkin ou de sarcoïdose présentent une déficience de l'hypersensibilité retardée de type tuberculinique.

Parmi les conditions favorables liées au greffon, on peut signaler qu'une greffe de petit volume est rejetée moins vite qu'une greffe plus grande — et que certaines greffes de tissu embryonnaire seraient antigéniquement immatures — Les greffes de glandes endocrines sont un matériel un peu à part en matière d'homogreffe. Elles sont en général mieux acceptées que les greffes des autres organes.

Certains lieux sont favorables aux greffes incompatibles : la chambre antérieure de l'œil, le cerveau de l'animal non préimmunisé, la poche jugale du Hamster, le testicule, l'utérus gravide, le muscle. L'espace sous capsulaire rénal a permis des homogreffes bréphoplastiques de rate. Des hétérogreffes tumorales sont réalisables dans le péritoine de rats et de hamsters.

Certains conditionnements du receveur, spécifiques ou non spécifiques ont été tentés pour prolonger la survie des greffes. Ils ont en général un effet limité, soit par leur toxicité, soit par leur courte durée d'action.

Nous nous sommes proposés d'étudier ces problèmes, en nous limitant à trois aspects bien délimités.

Dans un premier chapitre, nous avons utilisé des animaux mis en parabiose, ce qui constitue une large greffe d'un animal sur l'autre. Interviennent alors l'action et la réaction de chaque animal dans ce système. La greffe est largement irriguée par la propre circulation de l'animal et la mort est la conséquence directe et indirecte de la réaction immunologique.

Dans un deuxième chapitre, nous avons recherché quelle pouvait être l'efficacité de différents conditionnements non spécifiques du receveur ou du donneur pour modifier la survie d'homogreffes cutanées chez le cobaye.

Dans un troisième chapitre, nous étudions l'influence des antimétabolites sur une immunisation à caractère assez simple, la formation d'hétéro-agglutinines chez différentes espèces animales.

PREMIÈRE PARTIE.

ÉTUDE DE LA PARABIOSE HÉTÉROSPÉCIFIQUE.

Lorsque l'on greffe un organe à un animal, il se pose d'abord un problème de survie du greffon, fonction de l'apport nutritif réalisé par la vascularisation, soit qu'il s'agisse d'anastomoses chirurgicales, soit qu'il s'agisse d'une néovascularisation développée aussitôt après la greffe. Dans bien des cas, cet apport nutritif est réalisé de façon très précaire et le tissu dégénère par inanition, avant même qu'interviennent les manifestations d'une lésion immunologique.

Pour étudier le rejet d'une greffe, on peut s'adresser à des organes qui ont de faibles exigences métabolites, comme la peau. Mais nous avons pensé que, s'il était possible de conserver l'irrigation originelle de l'organe, on devrait pouvoir dissocier les manifestations de l'inanition de celles liées à la réaction antigène-anticorps. Nous avons ainsi réalisé des parabioses chirurgicalement entre deux animaux.

La parabiose est l'union des deux animaux vivants, spontanée dans certains cas exceptionnels, ou expérimentale entre animaux de laboratoire.

Il s'agit là d'une technique largement utilisée chaque fois que l'on veut isoler l'action et la réaction d'un traitement donné sur un animal.

C'est ainsi, par exemple, que l'on a pu étudier la régénération hépatique chez les rats en parabiose, la catalase hépatique d'un rat en parabiose avec un rat thyroïdectomisé, la survie des rats irradiés mis en parabiose avec des animaux hypophysectomisés, l'influence de l'adrénalectomie sur la repousse des poils de rats, les tumeurs ovariennes chez les souris en parabiose, la parabiose entre embryons de poussins, le mécanisme de la protection qu'exerce la rate vis-à-vis de l'infection à « Bartonella muris » chez le rat, la tolérance aux homogreffes après parabiose. Un très grand nombre de problèmes peuvent être dissociés et étudiés selon cette technique, qui est facilement réalisable. Un des animaux se comporte comme s'il n'était que secondairement atteint par les traitements que subit le premier, ce qui fait intervenir un nombre de facteurs moindres dans la réaction. L'union n'a de chance de réussir et de persister un certain temps que si certaines conditions sont réalisées. La tolérance n'existe que si la parabiose est réalisée entre animaux très proches génétiquement, de même poids et même sexe, ou si elle est établie pendant la période fœtale.

Nous avons utilisé la parabiose, non comme une technique physiologique et ou pharmacodynamique, mais pour explorer le comportement immunologique d'un animal à l'égard d'une large greffe. Nous nous sommes adressés à deux espèces différentes, le rat et le cobaye dans un premier groupe d'expérience, le rat et le mériion dans un deuxième groupe. Il s'agira de deux hétérogreffes qui restent fonctionnelles un certain temps et dans lesquelles se dessinent à la fois une réaction du greffon vis-à-vis de l'hôte et de l'hôte vis-à-vis du greffon.

Il semblerait plus utile d'utiliser des parabioses entre animaux de même race, car il est certain que si l'on peut espérer modifier le comportement des homogreffes pour arriver à leur tolérance, et ceci avec les applications cliniques que cela permet d'envisager, il est très peu vraisemblable que dans un avenir prochain nous serons capables d'utiliser des hétéro-greffes.

Cependant, les hétéro-parabioses présentaient certains avantages. C'était un phénomène plus brutal et nous pouvions espérer que l'apparition des anticorps nous aiderait à en suivre l'évolution. Mais surtout nous avons constaté que, dans un couple donné, c'était toujours le même animal qui mourait. Nous allons donc voir comment nous avons réalisé cette observation, pour mettre en évidence la possibilité d'intervenir sur l'évolution de la parabiose.

I. — Evolution de la parabiose et son incidence sur les constantes biologiques des animaux ainsi unis.

1. — Matériel et méthodes.

Nous n'avons pas cherché à utiliser des animaux de souche pure car ils sont souvent plus fragiles que ceux de souches hétérogènes et plus difficiles à se procurer en grande quantité.

De plus, comme nous nous proposons d'étudier les réactions d'une espèce vis-à-vis d'une autre, et que dans ce système les différences antigéniques sont a priori considérables, le caractère homogène de la souche employée perdrait tout intérêt, en présence de l'hétérogénéité des appariements.

L'expérimentation porte sur des rats blancs communs mâles de 150 g environ, des mériions adultes mâles et femelles, et des cobayes femelles de 200 à 250 g environ, de la variété tricolore. L'influence du sexe est négligeable dans les conditions où nous opérons. Le choix ci-dessus a été dicté par les facilités d'approvisionnement.

L'anesthésie du cobaye est faite à l'éther, en surveillant de très près les arrêts respiratoires, que l'on peut combattre par respiration artificielle. Le Rat et le Mériion sont anesthésiés au Nembutal administré par voie intra-péritonéale à la dose de 5 à 6 mg par 100 g de poids. Certaines souches de rat sont plus sensibles que d'autres ; il peut y avoir intérêt à ajuster les doses employées. Une anesthésie satisfaisante est obtenue en 10 minutes.

On rase le flanc droit d'un animal, le flanc gauche de l'autre. Après désinfection à l'alcool iodé, on effectue une longue incision affectant

le plan cutané, de l'épaule à la hanche ; puis, le plan abdominal en s'arrêtant à la base des côtes. Une suture au catgut réunit les cavités péritonéales des deux animaux ; le plan cutané est fermé par des agrafes.

2. — Courbes de survie.

Nous avons d'abord cherché à établir la courbe de survie spontanée des animaux mis en parabiose sans traitement préalable. Il suffit de noter quel est l'animal qui meurt et à quel moment.

Est considéré comme « mort au 8^e jour » un animal trouvé mort le 8^e jour, le jour de l'opération étant compté comme jour 0.

Les couples chez lesquels un animal est trouvé mort le lendemain de la parabiose sont éliminés. Il s'agit sans doute d'une faute technique, ou plus vraisemblablement, d'une erreur d'anesthésie.

Nous avons constaté dans les deux cas, qu'il s'agisse de parabiose rat-cobaye ou rat-mérion, que c'est toujours le rat qui survit.

Les résultats sont représentés dans le tableau I et les figures 1 et 2.

TABLEAU I.

Survie du cobaye et du mérion dans les parabioses rat-cobaye et rat-mérion.

Temps écoulé depuis l'opération	Nombre de cobayes morts	Mortalité %	Survie %	N° des parabioses des cobayes morts
I. — Parabiose rat-cobaye (24 couples en parabiose)				
2 jours.....	3	12,5	88	(4, 16, 28)
3 »	3	25	75	(5, 19, 26)
4 »	5	44	56	(8, 15, 23, 87, 89)
5 »	4	62	48	(2, 6, 13, 92)
6 »	3	75	25	(1, 14, 38)
7 »	3	88	12	(9, 18, 24)
8 »	2	96	4	(7, 25)
9 »	1	100	0	(90)
Temps écoulé depuis l'opération	Nombre de mérions morts	Mortalité %	Survie %	N° des parabioses des mérions morts
II. — Parabiose rat-mérion (13 couples en parabiose)				
4 jours.....	1	7,7	92	(10)
5 »	9	77	23	(4(*), 5, 6(*) 7, 11, 12, 13, 14, 16)
6 »	2	92	8	(9, 15)
7 »	1	100	0	(8)

(*) Dans ces couples, le rat est mort le même jour que le mérion.

A l'autopsie, dans 8 cas sur 13, le rat qui a été mis en parabiose avec le mériion a une rate macroscopiquement hypertrophiée ; chez trois couples, les viscères du rat et / ou du mériion sont jaunâtres.

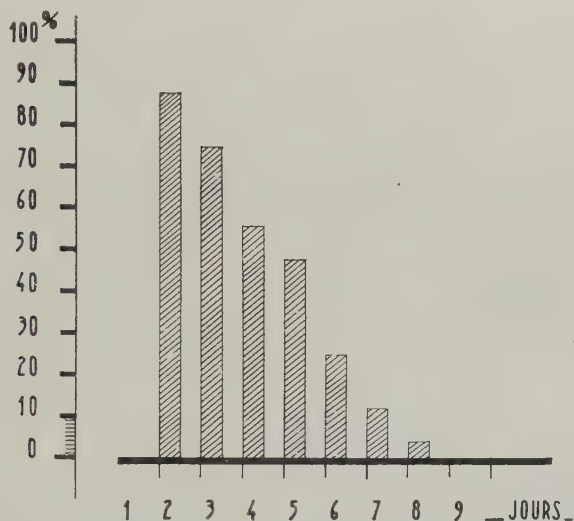


FIG. 1. — Survie du cobaye dans la parabiose rat-cobaye.

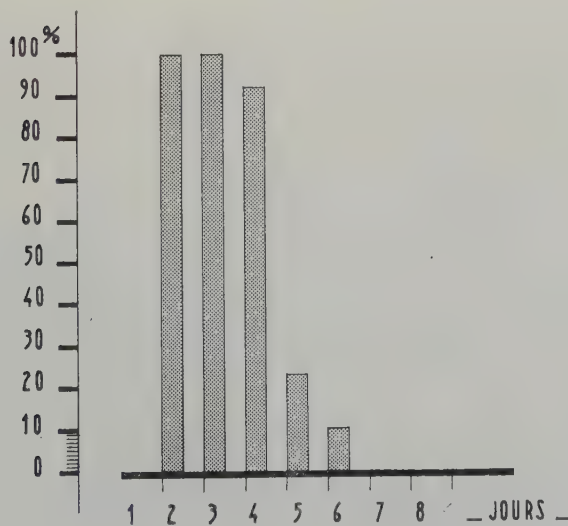


FIG. 2. — Survie du mériion dans la parabiose rat-mériion.

DISCUSSION DES RÉSULTATS.

En examinant ces résultats, nous avons d'abord pensé que dans le couple rat-cobaye, le cobaye mourait parce que c'est un animal de laboratoire considéré comme moins résistant que le Rat. Il pourrait s'agir d'une infection qui se généraliserait par la pénétration au niveau péritonéal des bactéries du tractus intestinal du rat. Des hémocultures faites à partir du sang de cobaye mourant n'ont montré que la présence de colibacilles, germes vraisemblablement agoniques, et non agent pathogène responsable de la mort.

En substituant le mérion au cobaye, nous avons affaire à un animal beaucoup plus proche du Rat dans l'échelle animale. C'est un animal plus sauvage, connu pour sa grande résistance à la soif et la capacité qu'il aurait même de se désaltérer en buvant de l'eau de mer.

Nous avons constaté qu'en dépit de ces caractères qui sembleraient favoriser la survie du couple, la parabiose rat-mérion évolue au contraire plus rapidement.

Il est intéressant de noter que 9 animaux sur 13 (soit 69 %) meurent le 5^e jour.

Nous sommes amenés à penser que la mort du cobaye ou celle du mérion n'est pas liée à une infection, mais aux conséquences d'une réaction de type immunologique du rat vis-à-vis de son partenaire. L'évolution de la parabiose serait l'image des différences de réactivité entre les espèces étudiées.

Nous allons chercher à confirmer cette hypothèse en étudiant les divers facteurs qui pourraient influencer l'évolution de la parabiose. De plus, nous avons essayé de modifier cette dernière en conditionnant les animaux de différentes façons.

3. — Mise en évidence d'un échange de liquide entre les deux animaux.

La possibilité de l'immunisation d'un animal vis-à-vis de l'autre suppose, a priori, l'existence d'un échange entre les deux animaux. Au niveau de la suture, les peaux sont mises bord à bord dans des conditions de greffe cutanée. Il n'y a pas de néovascularisation à ce niveau, car l'autopsie montre les parois des deux animaux simplement jointes par les fils de suture, se séparant facilement lorsqu'on les écarte et bien souvent le siège d'une nécrose blanchâtre non purulente.

Mais il doit exister au niveau des cavités péritonéales qui communiquent largement, une diffusion de liquide favorisée par la réaction au corps étranger que constitue la masse intestinale de l'autre animal et qui se traduit par une exsudation et une résorption accrues.

Pour mettre en évidence cet échange liquidien, nous avons utilisé la fluorescéine selon la technique de SCHEFF et PLAGGE (1955).

TECHNIQUE.

La fluorescéine est injectée par voie intraveineuse à l'un des animaux et l'on recherche l'apparition d'une fluorescence chez l'autre animal en se servant d'une lampe à UV. La dose utilisée est de 1 cm³ d'une solution de fluorescéine à 2 %.

RÉSULTATS.

Chez l'animal injecté, il y a apparition immédiate d'une fluorescence jaune au niveau des yeux, du nez, des coussinets plantaires et de l'urine. L'autre animal reste « obscur ».

A l'autopsie, le lendemain, on note que la fluorescence a pratiquement disparu chez l'animal qui avait reçu l'injection intra-veineuse. Une fluorescence très nette est visible chez l'autre animal, au niveau de l'intestin à l'intérieur de la paroi abdominale et dans les parties adipeuses périgénitales. On a noté parfois une très forte concentration de la fluorescence dans la vésicule biliaire.

Cette diffusion du colorant d'un animal à l'autre, permet de conclure à un échange certain entre les animaux. Son importance explique sans doute la rapidité de la réaction d'un animal à l'égard de l'autre.

4. — Toxicité aiguë des sérums hétérologues.

Puisqu'il y a échange liquidien entre les deux animaux, on pourrait penser que la mort serait la conséquence de la toxicité propre du sérum hétérologue pour l'animal. Nous avons tenté de vérifier cette hypothèse.

TECHNIQUES.

On injecte, par voie intrapéritonéale, 3 à 5 cm³ de sérum de rat à un cobaye de 250 g., ou 3 à 5 cm³ de sérum de cobaye à un rat de 150 à 200 g.

RÉSULTATS.

Aucune toxicité n'est notée dans ces conditions.

Nous devons cependant remarquer que l'injection intrapéritonéale unique de sérum hétérologue ne reproduit pas des conditions identiques à celles réalisées dans la parabiose, où la diffusion du plasma au niveau du péritoine se fait d'une manière lente, réduite, mais très prolongée.

5. — Etude des hétéro-agglutinines naturelles.

De même qu'on peut penser que le sérum d'un animal peut être toxique pour son partenaire, de même on peut supposer que la présence d'hétéroagglutinines naturelles entraîne des phénomènes d'hémolyse ou d'agglutination responsables de la mort. Nous avons donc titré le sérum de divers groupes d'animaux normaux avant toute intervention, vis-à-vis de globules des autres espèces.

TECHNIQUE.

Le titrage de l'hémagglutinine se fait par dilutions successives du sérum dans de l'eau physiologique et sous un volume de 0,5 ml. On laisse en contact avec une suspension à 2 % de globules rouges lavés. On apprécie le titre de l'agglutination après centrifugation pendant 3 minutes à 1000 tours.

RÉSULTATS.

Chez le Rat normal, le titre de l'hétéroagglutinine naturelle vis-à-vis d'une suspension de globules rouges de cobaye est inférieur à 1/10.

Chez le Mériion, vis-à-vis de globules rouges de rat, le titre moyen est de 1/10.

Chez le Cobaye, vis-à-vis de globules rouges de rat, le titre moyen est de 1/80.

Chez le Rat, vis-à-vis de globules rouges de mériion, le titre est inférieur au 1/10.

CONCLUSIONS.

Ce n'est donc pas une hétéroagglutinine naturelle, particulièrement forte, qui est responsable de la mort des animaux.

6. — Etude des hétéroagglutinines formées au cours de la parabiose.

La diffusion permanente pendant la durée de la parabiose de liquides entre les deux cavités péritonéales, et de substances dissoutes de

TABLEAU II.

Titre des hétéroagglutinines présentes dans le sérum des animaux en parabiose.

N° de l'animal	Titre vis-à-vis de globules rouges de l'espèce partenaire	Temps écoulé depuis l'opération	Observations
<i>I. Parabiose rat-cobaye</i>			
R 73....	1/640	6 jours	(le cobaye a été tué accidentellement)
R 90....	1/5.000	6 jours	(le cobaye est mort le 9 ^e jour)
R 91....	1/2.500	6 jours	(le cobaye est mort le 7 ^e jour pendant l'anesthésie)
R 92....	1/20.000	5 jours	(le cobaye est mort)
GP 73 ..	1/40	6 jours	(tué accidentellement)
<i>II. — Parabiose rat-mériion</i>			
R 12....	1/1.250	5 jours	(le mériion est mort le 5 ^e jour)
R 9.....	1/5.000	6 jours	(le mériion est mort le 6 ^e jour)
R 9.....	1/5.000	7 jours	(le mériion est mort le 7 ^e jour)
M 15 ...	inf. à 1/10	5 jours	(le mériion est mort le 6 ^e jour)

poids moléculaires plus ou moins élevé, entraîne une large immunisation d'un animal vis-à-vis de l'autre, qui doit se traduire par l'apparition d'anticorps à l'égard des différents antigènes présents. L'antigène le plus accessible est l'antigène érythrocytaire, dont on met facilement l'anticorps en évidence par agglutination. Les hétéroagglutinines naturelles sont présentes à un taux assez faible chez les animaux en expérience. Une augmentation du titre montre la présence d'un anticorps formé soit vis-à-vis d'antigènes érythrocytaires, soit vis-à-vis d'antigènes voisins.

On peut admettre qu'il y a diffusion d'hématies au niveau de la cavité péritonéale, même s'il n'y a pas de continuité de vascularisation, ou de néovascularisation. On sait de façon très parallèle que les hématies du fœtus se retrouvent chez la mère, malgré la barrière placentaire. Il est logique d'admettre qu'ici la barrière entre les deux animaux est beaucoup plus ouverte que celle qu'oppose le placenta.

TABLEAU III.
*Evolution du titre d'hétérohémagglutinines
au cours de la parabiose rat-cobayes.*

Temps écoulé depuis l'opération	N° du rat	Titre vis-à-vis de GR du cobaye	N° du cobaye	Titre vis-à-vis de GR du rat
2 jours	R 150	0	GP 150	1/160
	R 151	0	GP 151	1/80
	R 152	0	GP 152	1/80
	R 153	0	GP 153	1/160
	R 156	0	GP 156	1/80
	R 166	0	GP 166	1/80
	R 167	0		
	R 168	1/10	GP 168	1/80
	R 170	0		
	R 176	0	GP 176	1/40
4 jours	R 151	1/80	GP 151	1/320
	R 152	1/40	GP 152	1/80
	R 171	1/40	GP 171	1/40
	R 174	1/80	GP 174	1/320
	R 175	1/20	GP 175	1/80
6 jours	R 158	0		
	R 165	1/20		
	R 174	1/320		
7 jours	R 152	1/2.500	GP 152	1/1.250
8 jours	R 152	1/320		

PROTOCOLE.

Dans un premier temps, nous avons déterminé le titre en hétérohémagglutinines du sérum des animaux au moment de la fin de l'union par la mort de l'un d'eux. Techniquement, il a été très difficile d'avoir de nombreux échantillons de sang du cobaye, car en général, nous trouvions l'animal mort.

D'où la nécessité dans un deuxième temps de ponctionner les animaux à intervalles réguliers et de suivre l'évolution du titre. Les ponctions répétées, si bien réalisées soient-elles, font craindre de tuer l'animal. De plus, l'hémorragie que constitue le prélèvement sanguin, peut perturber les constantes hématologiques. Nous avons présentes à l'esprit ces remarques et nous en tiendrons compte dans l'interprétation des résultats.

La technique de détermination des hétéroagglutinines vient d'être décrite au paragraphe précédent.

Chez les animaux chez lesquels on suit l'évolution du titre, le prélèvement est fait par ponction cardiaque tous les deux jours.

CONCLUSIONS.

Les variations du titre des hétéroagglutinines sont assez irrégulières. Nous observons néanmoins plusieurs faits :

Le rat s'immunise vis-à-vis du cobaye puisque le sérum R 92 titre déjà le 1/20.000 au 5^e jour.

Le cobaye mort s'élimine en quelque sorte de la circulation générale ; il n'y a pas fixation par ses tissus des anticorps sériques du rat.

Dans la deuxième série d'expériences, les ponctions cardiaques répétées entraînent la mort des animaux dans un certain nombre de cas. Le processus toxique n'a donc pas le temps de se développer complètement. Les hétérohémagglutinines n'atteignent pas leur titre maximum. Comme nous savons que le titre moyen des agglutinines du cobaye vis-à-vis des globules rouges de rat est de 1/80, nous remarquons que les variations chez le cobaye ne sont pas importantes. Par contre, le rat répond mieux.

Il est à noter néanmoins que, même lorsque nous mettons en évidence un titre élevé dans le sérum d'un animal, nous ne savons pas s'il est entièrement le responsable direct de la mort, ou bien s'il n'en est que le témoin. Il se peut de plus que d'autres anticorps se forment, qui ne sont pas mis en évidence par cette technique et qui possèderaient une cytotoxicité certaine pour le cobaye.

7. — Etude des variations hématologiques observées dans la parabiose rat-cobaye.

CHUTE et SOMMERS (1952) confirment la base immunologique de l'intoxication par la découverte d'hémagglutinines à l'égard des érythrocytes du partenaire anémique d'une parabiose présentant une forte anémie hémolytique chez l'un des partenaires. FINERTY et PANOS (1951) décrivent dans l'intoxication parabiologique observable chez certains couples de rat mis en parabiose une différence notable entre le taux d'hémoglobine des deux animaux, le partenaire hyperémique possédait un taux d'hémoglobine 2 à 3 fois plus élevé que celui du rat anémique. HALL et HALL (1960) ont pensé qu'il y aurait migration de sang d'un des animaux chez l'autre. Chez la souris, l'anémie n'est pas due à l'hémolyse, ni à une dépression de l'érythropoïèse, et la polycythémie de l'autre animal ne peut pas être attribuée à une érythropoïèse augmentée. On ne peut pas provoquer ces phénomènes chez les ani-

maux isolés, soit de souche pure, soit hybrides, en leur injectant du sang ou des suspensions spléniques ou ganglionnaires provenant d'un donneur de constitution génétique opposée, bien que ces phénomènes hématologiques se développent lorsque la parabiose est faite entre les animaux. L'augmentation de la masse érythrocytaire chez l'un est compensée par une baisse équivalente chez l'autre. Cette hypothèse semble le mieux expliquer ce que l'on observe.

KONIECZNA-MARCZYNSKA et SKOWROW-CENDRAK (1960) notent dans les parabioses souris-hamster, dans la majorité des cas une forte anémie hémolytique chez la souris et la présence d'hémagglutinines et d'anticorps incomplets dans le sérum du hamster. Chez le hamster, on ne note pas de variations dans le taux des érythrocytes. On observe par contre, au 4^e jour de la parabiose une leucopénie importante chez le hamster, que l'on peut expliquer par la production de leucoagglutinines chez la souris.

RICHWALD (1961) divise l'évolution de cette association anémie polycythémie, dans les parabioses entre rats en deux étapes : une période précoce avec anémie chez les deux animaux dûe à un gradient de pression, et une période plus tardive caractérisée par la persistance de l'anémie chez l'un des animaux, conséquence de mécanismes immunologiques mal définis.

MAC GILLIVRAY et TOKUDA (1962) ont montré que l'anémie observée pendant les parabioses entre souris hybrides et un de ses parents de souche pure, s'accompagne d'une diminution de la masse sanguine, alors que la polycythémie s'accompagne d'une augmentation de cette masse sanguine.

TECHNIQUE.

Il est facile de prélever du sang au bout de la queue du rat ou à l'oreille du cobaye, non anesthésié, pour déterminer le taux de globules rouges, de globules blancs et la formule leucocytaire, et en suivre l'évolution.

RÉSULTATS. — Ils sont rapportés dans le tableau A inséré en annexe.

Les variations individuelles sont assez importantes et les résultats sont peu concluants. Il est difficile de voir s'amorcer une altération hématologique dans un sens ou dans un autre, au 2^e, 4^e, ou même 6^e jour. Les auteurs qui ont décrit l'existence d'une anémie, étudiaient des homoparabiose qui avaient survécu au moins 7 à 9 jours. Malgré l'accélération des phénomènes dans le cas d'une parabiose hétérospécifique, il se peut que l'anémie soit d'apparition plus tardive. Il se peut aussi qu'elle soit masquée par un phénomène plus brutal. Les anticorps qui se sont formés peuvent aussi avoir une affinité non spécifiquement érythrocytaire.

8. — Etude électrophorétique des protéines des sérums d'animaux en parabiose.

Cette étude a été faite avec l'intention de mettre en évidence les variations des fractions protéiques témoins d'une réaction immunologique.

Nous n'avons pas rencontré dans la littérature d'observations portant sur l'électrophorèse de sérums au cours des parabioses hétérospécifiques.

ENSELME, J., et coll. (1955) ont étudié les protéines du sérum de rats en parabiose et ont observé une forte diminution des albumines, à la fois en pourcentage et en valeur absolue. Les apha 2 sont un peu augmentées, les bêta le sont nettement. Les gamma-globulines conservent la même valeur.

Les observations de KAMRIN (1958) dans le cas d'homoparabiose entre rats sont tout à fait superposables.

TECHNIQUE.

La technique de l'électrophorèse sur papier est décrite au chapitre III.

RÉSULTATS.

Voici d'abord les valeurs que nous observons chez les animaux normaux :

TABLEAU IV.

	Albumine	Globulines			
		α 1	α 2	β	γ
Rat (30 animaux) ..	41,6	13,6	12,1	20,3	12,4
Cobaye (18 anim.)..	56,7	5,4	20,9	9,5	7,5
Mérion (6 anim.)...	58,5	1,9	15,7	19,8	4,1

Après parabiose, les moyennes des valeurs observées sont indiquées dans le tableau V. Les valeurs individuelles sont groupées dans le tableau B inséré en annexe.

La présence des deux albumines 1 et 2 s'observe encore plus nettement au 7^e jour de la parabiose.

DISCUSSION DES RÉSULTATS.

Nous observons ici une chute des albumines, avec augmentation des alpha ₁, et alpha ₂ globulines chez le Rat et le Mérion, et des alpha ₁ et bêta globulines chez le Cobaye. Par contre, les gamma globulines varient peu.

Il nous semble intéressant de relever un phénomène, jamais encore signalé, la présence dans le sérum du Rat mis en parabiose avec un Mérion pendant 5 jours, d'une fraction protéique qui migre à la vitesse de l'albumine du Mérion et que nous pensons être le témoin d'un échange sérique important entre les deux animaux.

La migration simultanée du sérum normal de cobaye, de rat, et du mérion d'une part, du mélange de sérum de rat et de mérion à parties égales d'autre part, et enfin du sérum d'un rat en parabiose depuis

TABLEAU V.
Variation des protéines sériques au cours de la parabiose.

Durée de la parabiose	Nombre d'échantillons	Alb.	α_1	α_2	β	γ	
I. — Parabiose rat-cobaye							
<i>Sérum de rat</i>							
4 à 5 jours.....	5	32,8	19,4	19,8	18,1	9,9	
6 jours	6	27,6	24,5	15,8	23,0	9,1	
<i>Sérum de cobaye</i>							
4 à 6 jours	4	38,9	10,6	28,8	14,5	7,2	
Durée de la parabiose	Nombre d'échan- tillons	Alb. ₁	Alb. ₂	α_1	α_2	β	γ
II. — Parabiose rat-mérion							
<i>Sérum de rat</i>							
5 jours	6	30	26,6	19,0	14,0	27,9	9,5

5 jours avec un mérion, nous a permis d'observer l'identité des images dans les deux derniers cas, ce qui confirme l'hypothèse d'un échange (Fig. 3).

Ce phénomène doit exister également dans les sérums de rats et de cobaye en parabiose, mais il est masqué par l'identité de vitesse de migration des protéines de cobaye et de rat.

II. — Influence de différents traitements sur l'évolution de la parabiose.

L'évolution spontanée de la parabiose aboutit à la mort du cobaye ou du mérion au bout d'un temps plus ou moins long.

Il paraît donc intéressant de rechercher s'il existe des moyens de retarder cette mort, en intervenant soit sur le cobaye ou le mérion, soit sur le rat, soit sur les deux animaux à la fois.

1. — Administration de substances polysidiques de nature animale.

On connaît les travaux de FELTON (1952-1955) sur l'influence inhibitrice des doses élevées d'un antigène polysaccharidique : FELTON pense que l'inondation du système immunologique par une forte dose de polysaccharide pneumococcique chez la souris bloque ce système et l'empêche de répondre,

Différents auteurs ont essayé d'obtenir un effet analogue par l'injection de ribonucléoprotéines hétérologues (JANKOVIC, ISAKOVIC et HORVAT, 1960), de protéines hétérologues à doses élevées (DRESSER, 1962, LIACOPOULOS, 1961), de sérum homologue (GORDON, 1962). Dans chaque cas, il est nécessaire de définir avec beaucoup de soin quelles sont les doses utilisées et à quel moment elles sont injectées par rapport au stimulus antigénique.

Nous avons cherché ici à utiliser des substances polysidiques d'origine animale extraites des tissus selon la technique décrite pour la préparation des substances de groupe sanguin (FINE et AUDRAN, 1959).

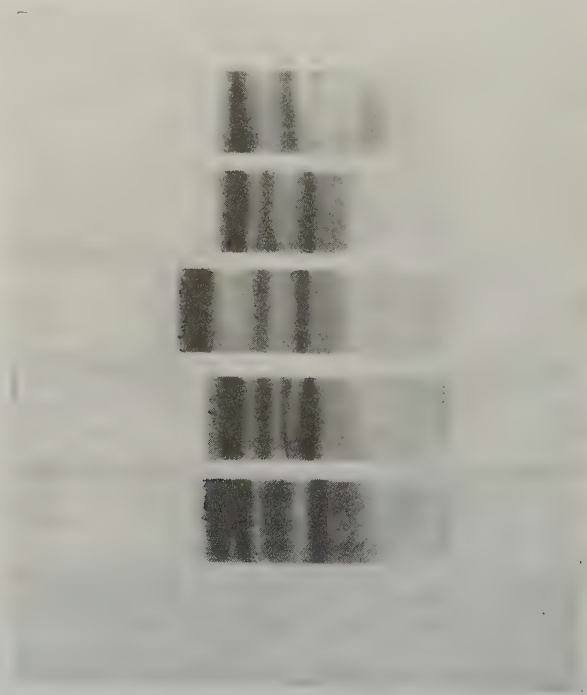


FIG. 3. — Electrophorèse comparée des échantillons de sérums normaux de cobaye, de rat et de mériion, de sérum de rat en parabiose avec un mériion, et d'un mélange à parties égales de sérum de rat et de mériion normaux (de haut en bas de la figure).

MATÉRIEL ET MÉTHODE.

Les organes (foie, rat, cœur, poumon, sang) sont prélevés sur le cobaye ou le rat, et peuvent être traités aussitôt ou conservés congelés quelque temps.

Le principe général de la méthode repose sur la précipitation alcoolique des polysaccharides présents dans les produits de digestion

enzymatique des organes par la papaine. Les précipités remis en solution sont ensuite débarrassés des impuretés protéiniques par la méthode de Sevag.

On met en contact 1000 g. d'organe haché, 1000 g. d'eau physiologique et 6 g. de papaine. On porte à 80° pendant 5 min. On filtre sur papier Chardin et le filtrat est autoclavé.

La précipitation des polysaccharides est effectuée par addition de 4 volumes d'éthanol à 95° en présence d'acétate de sodium. Le précipité est lavé à l'alcool, séché, puis repris par 250 ml d'eau distillée. A 250 ml de cette solution, on ajoute 10 g. d'acétate de sodium et 5 ml d'acide acétique glacial, puis 50 ml de chloroforme et 10 ml de n-butanol.

On agite mécaniquement ce mélange pendant une heure et on centrifuge à 3000 tours par minute pendant 30 min. Après centrifugation, on a trois zones de densités différentes :

- un surnageant aqueux contenant les polysaccharides ;
- une couche de gel protéinique intermédiaire ;
- une couche profonde correspondant au solvant (CHCl_3).

On pipette le surnageant et on répète cette opération jusqu'à absence de formation de gel protéinique à l'interface solution aqueuse/chloroforme. Il est parfois nécessaire d'effectuer 8 à 10 purifications successives.

Le dernier surnageant une fois recueilli, on effectue la précipitation des polysaccharides par l'éthanol à 95° (4 volumes). Après lavage du précipité à l'alcool, on redissout le précipité dans une solution de chlorure de sodium à 9 %. La dessiccation peut être effectuée par lyophilisation.

Nous utilisons le produit en solution dans l'eau physiologique.

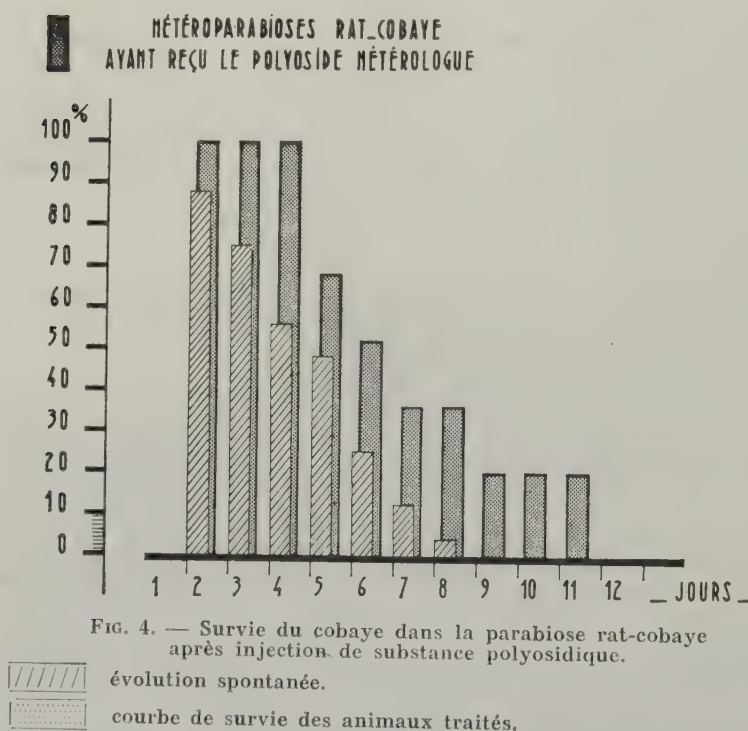
Le cobaye reçoit 5 jours avant la parabiose par voie intrapéritonéale une quantité de solution qui correspond sensiblement à celle extraite des organes d'un Rat. Le rat reçoit dans les mêmes conditions la quantité correspondant aux organes d'un cobaye.

TABLEAU VI.

*Survie du cobaye dans la parabiose rat-cobaye
réalisée après administration de substances polysidiques
(12 couples en parabiose).*

Temps écoulé depuis l'opération	Nombre de cobayes morts	Mortalité %	Survie %	N° des parabioses des cobayes morts
5 jours	4	32	68	(63, 38, 39, 52)
6 «	2	48	52	(37, 53)
7 «	3	64	36	(51, 64, 65)
8 «				
9 «	1	83	17	(62)
10 «				
11 «				
12 «	2	100	0	(67, 66)

RÉSULTATS. — Ils sont groupés dans le tableau VI et la Fig. 4.



CONCLUSIONS. — Après injection de substance polyosidique, on observe un phénomène inattendu : aucune mortalité pendant les 4 premiers jours, et en outre une nette augmentation de la survie dans tous les cas.

Bien que nous sachions que nos expériences sont peu nombreuses, le résultat est si net que nous pensons devoir les discuter dès à présent.

On peut faire diverses hypothèses sur le mode d'action de cette substance polyosidique. Nous en exposerons deux.

On peut supposer que le polyoside de cobaye injecté au rat neutralise les divers anticorps présents chez ce dernier. Ces anticorps perdent alors leur caractère toxique pour le cobaye.

La substance polyosidique pourrait aussi saturer le système responsable de la synthèse des anticorps. Ce système se trouverait donc partiellement inhibé vis-à-vis des autres antigènes qui l'atteignent lors de la parabiose. Il peut aussi y avoir compétition entre la substance polyosidique injectée et les antigènes apportés par l'animal en parabiose.

Nos résultats nous semblent suffisamment intéressants pour que nous reprenions l'étude de ce problème afin d'asseoir cette deuxième hypothèse, la plus vraisemblable.

Il peut être aussi intéressant de savoir à quel moment l'administration de polyoside est la plus favorable (avant, au moment de la parabiose ou un peu après). Est-il possible d'obtenir de meilleurs résultats en faisant plusieurs injections à des temps différents.

D'autre part, nous remarquons que nous avons utilisé dans cette expérience de polyoside de rat qui est injecté au cobaye — et du polyoside de cobaye qui est injecté au rat. La spécificité de la substance utilisée est-elle très étroite ? ou bien peut-on utiliser des substances extraites d'organes d'autres espèces animales (lapin, mouton, cheval, bœuf) ?

2. — Hétéroparabiose entre Rat et Cobaye immunisé avec du sang de Rat.

Les variations observées dans le titre en hétéroagglutinines chez les animaux des deux espèces, font penser que la mort du cobaye est consécutive à une réaction immunitaire du rat vis-à-vis du cobaye, plus intense que l'immunisation du cobaye vis-à-vis du rat. D'où l'idée d'une immunisation préalable du cobaye avec du sang de rat.

KONIECZNA, MARCZYNSKA et SKOWRON-CENDRZAK (1960) ont observé que dans la parabiose souris-hamster, qui conduit à la mort de la souris, l'immunisation préalable de la souris par une greffe de peau de hamster protège dans certains cas contre l'anémie hémolytique. La protection ainsi réalisée est passagère et la souris ne survit guère plus longtemps que s'il n'y avait pas eu de préimmunisation.

TABLEAU VII.

Survie du cobaye dans la parabiose rat-cobaye immunisé avec du sang de rat (12 couples en parabiose).

Temps écoulé depuis l'opération	Nombre de cobayes morts	Mortalité %	Survie %	N° des parabioses des cobayes morts
2 jours.....	3	25	75	(110, 113, 120)
3 »	1	35	67	(104)
4 »	2	50	50	(106, 108)
5 »	4	83	17	(92, 107, 105, 114)
11 »	1	92	8	(116)
12 »	1	100	0	(109)

TECHNIQUE.

Le cobaye reçoit par voie intracardiaque, deux fois par semaine, quatre injections de 0,5 ml de sang de rat hépariné dilué au 1/10. Une désensibilisation au Phénergan est nécessaire à la 3^e injection. Pour cela, on injecte aux cobayes trois fois à 1/4 d'heure d'intervalle 4 mg par animal de Phénergan, les deux premières injections se font par

voie intramusculaire, la 3^e par voie intraveineuse (ou intramusculaire si impossible). L'injection antigénique est faite 1/4 d'heure après.

Le titre moyen du sérum de cobaye vis-à-vis de globules rouges de rat est de 1/1250 au bout de deux semaines.

RÉSULTATS.

Ils sont groupés dans le Tableau VII et la figure 5.

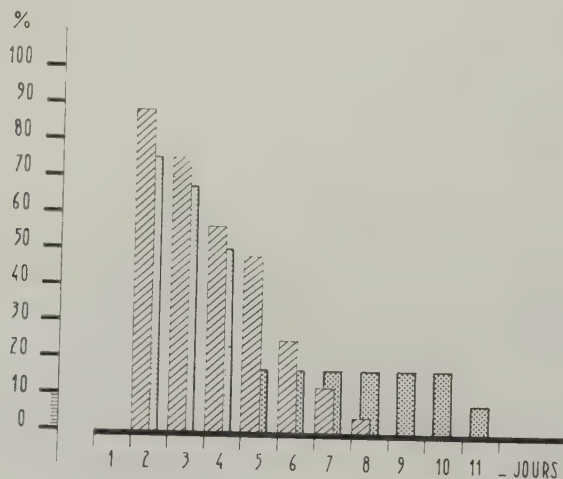


Fig. 5. — Survie du cobaye dans la parabiose rat-cobaye immunisé avec du sang de rat.

/// courbe de l'évolution spontanée.

..... courbe de survie des animaux traités.

CONCLUSIONS.

Deux couples (sur 12) ont une survie prolongée de trois jours. Mais la partie initiale de la courbe se superpose assez étroitement à la courbe témoin. Nous aurions pensé que cette immunisation qui a provoqué chez ces animaux la formation d'hétéro-hémagglutinines à un taux assez élevé, aurait modifié l'évolution de façon plus significative. Il se peut que les anticorps protecteurs ne soient pas des hétéro-hémagglutinines, mais correspondent à d'autres antigènes. Le spectre antigénique du sang de rat ne fournit peut-être pas une immunisation assez longue.

3. — Hétéroparabiose entre rat recevant de la substance polyosidique et cobaye immunisé avec du sang de rat, et recevant en plus de la substance polyosidique.

Nous avons crû intéressant de coupler les deux protocoles précédents dans l'espoir d'améliorer nos résultats en additionnant les effets de chaque procédé.

TECHNIQUE.

L'immunisation est réalisée comme précédemment. La substance polyosidique est injectée 5 jours avant la parabiose. Nous avons aussi déterminé le titre des sérums de cobaye.

TABEAU VIII.

Survie du cobaye dans la parabiose rat recevant de la substance polyosidique et cobaye immunisé avec du sang de rat et recevant en plus de la substance polyosidique (9 couples en parabiose).

Temps écoulé depuis l'opération	Nombre de cobayes morts	Mortalité %	Survie %	N° des parabioses des cobayes morts
4 jours.....	2	22	78	(126, 130)
5 »	3	55	45	(129, 131, 132)
6 »	2	78	22	(128, 127)
7 »	1	89	11	(125)
8 »	1	100	0	(133)

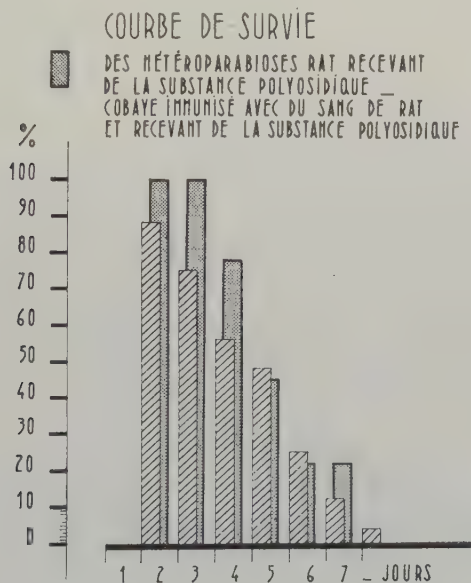


FIG. 6. — Survie du cobaye dans la parabiose rat ayant reçu du polyoside et cobaye immunisé avec du sang de rat et ayant reçu également du polyoside.

courbe de l'évolution spontanée.
 courbe de survie des animaux traités.

RÉSULTATS.

Ils sont groupés dans le tableau VIII et la figure 6.

Après 4 jours de parabiose, le sérum de cobaye 131 titre 1/640 vis-à-vis des globules rouges de rat. Après 5 jours de parabiose, le sérum du cobaye 127 titre 1/1250, du cobaye 129, 1/5000, du cobaye 130, 1/2500.

CONCLUSIONS.

Nous retrouvons ici les phénomènes décrits au paragraphe I du chapitre II, mais moins net qu'alors : aucune mortalité pendant les trois premiers jours (au lieu de 4 précédemment) ; mais le reste de l'évolution n'est guère modifié par rapport à l'évolution spontanée.

Les titres des sérums de cobaye de l'expérience sont très voisins de ceux d'animaux immunisés, déterminés avant la mise en parabiose.

4. — Séparation des animaux après 4 jours de parabiose.

Nous avons recherché dans quelle mesure des animaux, mis en parabiose puis séparés, étaient capables de survivre.

TECHNIQUE.

L'opération est très facile. Il suffit d'enlever les agraffes et de couper les fils de suture. On renferme ensuite la plaie en recousant les bords.

On détermine de plus les titres en hétéro-hémagglutinines présentes dans le sérum des animaux séparés après 4 jours de parabiose.

RÉSULTATS.

La mort du cobaye survient au 5^e jour dans la parabiose (138, 141), au 6^e jour dans les parabioses (140, 147), au 10^e jour dans la parabiose (144), (la plaie est ouverte et infectée), au 20^e jour, dans la parabiose (139). Il y a survie dans le cas des parabioses (142, 146).

Nous observons par ailleurs, après séparation des animaux, les titres suivants en hétérohémagglutinines :

Dans le sérum du R 86, après 3 jours de séparation un titre de 1/1250 et après 7 jours, 1/320. Dans le sérum du R 87, le titre est de 1/160, après 7 jours de séparation.

CONCLUSIONS.

Il semble que lorsque le processus immunologique est fortement engagé, le cobaye meurt dans les délais normaux, comme s'il n'y avait pas eu de séparation. Par contre, lorsque la réaction du rat, pour une raison que nous ne connaissons pas est plus faible et plus lente, la séparation permet la survie presque complète des deux animaux.

Nous notons aussi que le titre en hétéroagglutinines du sérum du rat diminue assez rapidement en l'absence de stimulus antigénique.

5. — Influence de la cortisone sur l'évolution de la parabiose.

En tenant compte de l'action de la cortisone sur la formation des anticorps, il nous a semblé que son utilisation au cours de nos para-

bioses fournirait des résultats auxquels pourraient être comparés ceux fournis par d'autres types de traitement.

Puisque c'est le rat qui s'immunise le mieux, la cortisone va être injectée au Rat ; de plus le cobaye est peu sensible à l'action de la cortisone.

TABLEAU IX.

Survie du cobaye dans la parabiose rat-cobaye lorsque le rat reçoit des injections de cortisone.

Temps écoulé depuis l'opération	Nombre de cobayes morts	Mortalité %	Survie %	N° des parabioses des cobayes morts
3 jours.....	2	22	78	(161 (*), 162 (*))
4 »	1	33	67	(164)
5 »	1	44	56	(163)
6 »	2	66	34	(165, 169)
7 »	1	77	23	(160) (*)
10 »	1	88	12	(157) (*)
11 »	1	100	0	(158) (*)

(*) Dans ces couples, le rat est mort en même temps que le cobaye.

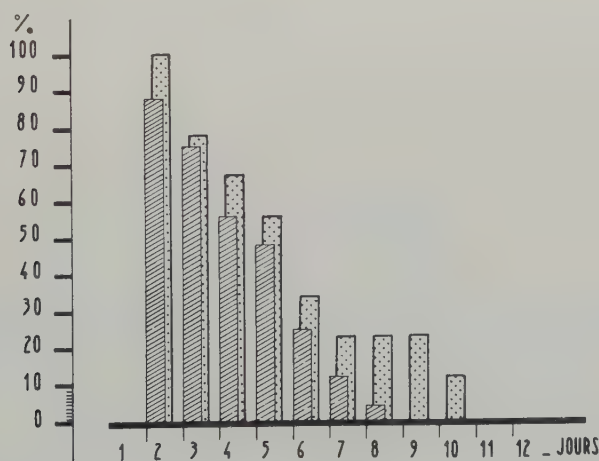


FIG. 7. — Survie du cobaye dans le parabiose rat cobaye lorsque le rat reçoit des injections de cortisone.



courbe de l'évolution spontanée.



courbe de survie des animaux traités.

TECHNIQUE.

La cortisone est injectée au rat à la dose de 6 mg par animal (de 110 à 150 g) par voie intramusculaire, 4 jours avant et un jour après la mise en parabiose.

RÉSULTATS.

Ils sont rapportés dans le tableau IX et la figure 7.

DISCUSSION.

L'amélioration de la survie (de 3 jours dans 23 % des cas) est très comparable à celle que l'on a observée dans le cas où l'on avait pré-immunisé le cobaye avec du sang de rat.

Mais on n'observe pas le décalage par rapport à la courbe témoin que nous avons noté chez les animaux ayant reçu de la substance polyosidique — traitement qui nous semble donc plus favorable que la cortisone —.

Remarquons de plus que dans 5 cas, rat et cobaye sont morts en même temps ; ce que nous n'avions pas observé jusqu'à présent.

6. — Influence des antihistaminiques sur l'évolution de la parabiose.

L'efficacité des antihistaminiques dans la désensibilisation des animaux au cours d'une immunisation prolongée, nous a conduit à rechercher s'ils ne pourraient pas intervenir ici en évitant les manifestations toxiques de la réaction antigène-anticorps chez l'animal qui meurt.

TECHNIQUE : l'expérience a été réalisée avec le couple Rat-Mérion, en utilisant le Phénergan, injecté à la dose de 2,5 mg par animal 3 fois par jour par voie intramusculaire, généralement deux injections le matin, une le soir.

TABLEAU X.
Survie du mérion dans la parabiose rat mérion traitée par le Phénergan.

Temps écoulé depuis l'opération	Nombre de cobayes morts	Mortalité %	Survie %	N° des parabioses des cobayes morts
3 jours.....	1	7,7	93	(18)
4 »	3	31	69	(19, 23, 30)
5 »	2	46	54	(21, 28)
6 »	1	54	46	(26)
7 »	1	61	39	(22)
8 »	2	77	23	(20, 25)
9 »	2	92	8	(24, 27)
14 »	1	100	0	(31)

De plus, nous aurons pu déterminer les titres en hétéroagglutinines du sérum de quelques animaux.

RÉSULTATS.

Ils sont groupés dans le tableau X et la figure 8.

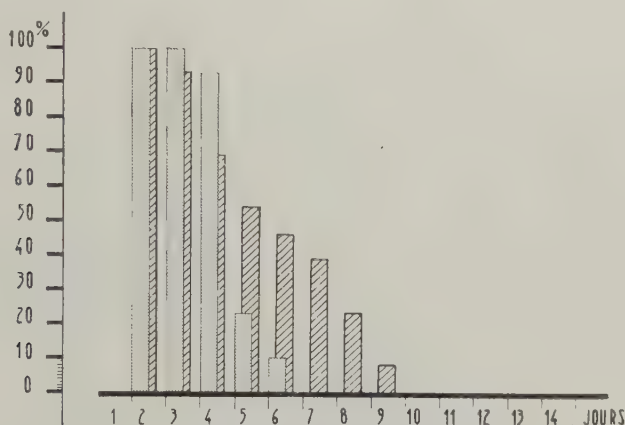


Fig. 8. — Survie du mériion dans la parabiose rat-mériion recevant du phénergan.

 courbe de l'évolution spontanée.
 courbe de survie des animaux traités.

On note que dans les couples (30) et (31), c'est le Rat qui est mort. Dans le couple (26), les deux animaux sont morts.

Il nous a été possible de titrer dans quelques cas l'hétérohémagglutinine formée, soit chez les deux animaux, quand la prise de sang était possible, soit sur un seul. Ces résultats sont groupés dans le tableau XI.

TABLEAU XI.

Titre en hétérohémagglutinines des sérums de rats et mériions en parabiose, recevant du phénergan.

- R.29. M.29 : au 3^e jour, on constate un titre de 1/1250 pour le rat
 au 4^e jour, le titre du rat est 1/10.000
 au 4^e jour, le titre du mériion est 1/320 (le rat dévore le mériion d'où fin de l'expérience).
- R.27. M.27 : au 6^e jour, titre du rat 1/20.000
 au 6^e jour, titre du mériion 1/320.
 ici, le mériion est mort le lendemain
- R.30. M.30 : le rat est mort le 4^e jour, et le mériion a un titre nul
- R.31. M.31 : le rat est mort le 14^e jour, le titre du mériion est 1/1250
- R.25. M.25 : au 8^e jour, le mériion est mort, le titre du rat est 1/80.

DISCUSSION.

Dans le couple rat-mérion, l'amélioration de la survie est nette sous l'influence du traitement au Phénergan. Le rat s'immunise de façon très intense et néanmoins, le mérion survit. Dans certains cas, le phénomène peut être inversé et c'est alors le rat qui meurt. Ceci est le témoin d'une activité certaine de l'antihistaminique qui d'une part protège le mérion contre la toxicité de l'histamine libérée au cours de la réaction antigène du mérion-anticorps de rat antimérion — (ce qui se traduit par la survie du mérion), et d'autre part, permet une immunisation plus intense du mérion contre le rat (ce qui entraîne la mort du rat).

Ces résultats ne concordent pas avec ceux rapportés par SIMONSEN et CHRISTENSEN (1950), qui ont été incapables de protéger les parabioses Rat-Souris par un traitement antihistaminique.

Les quelques titres que nous indiquons présentent une certaine incohérence. Ainsi le sérum 25 ne titre que le 1/80 après 8 j de parabiose, et le sérum M 30 a un titre nul, alors que le rat est mort. D'autres animaux par contre se sont remarquablement bien immunisés.

Ces résultats ne nous ont pas semblé mériter une extension des expériences, en dépit de l'effet intéressant sur la survie.

7. — Influence des gamma-globulines humaines sur l'évolution de la parabiose.

Les travaux récents de HALPERN (1961) ont montré que les gamma-globulines naturelles interfèrent avec la fixation cellulaire des anticorps, autrement dit, avec les processus fondamentaux de la sensibilisation. Dans l'évolution de la parabiose, nous avons pensé, sans altérer la synthèse des anticorps, pouvoir en altérer les manifestations cytotoxiques.

TECHNIQUE.

La dose de gamma-globulines humaines injectée est de l'ordre de 300 mg par cobaye (2 cm³ de la solution de gamma-globulines standard

TABLEAU XI.

Survie du cobaye dans la parabiose rat-cobaye dont le cobaye a reçu une injection de gamma globulines (10 couples en parabiose).

Temps écoulé depuis l'opération	Nombre de cobayes morts	Mortalité %	Survie %	N° des parabioses des cobayes morts
6 jours.....	4	40	60	(177, 179, 180, 184)
7 »	1	50	50	(178)
8 »	2	70	30	(185, 186)
9 »	2	90	10	(181, 182)
10 »	Survie après séparation spontanée			(183)

à 16,5 g % par voie intrapéritonéale pour un cobaye de 250 à 300 g). Cette dose double sensiblement la quantité de gamma-globulines endogènes. L'injection est faite au moment de la parabiose.

RÉSULTATS.

Ils sont indiqués dans le tableau XI et la figure 9.

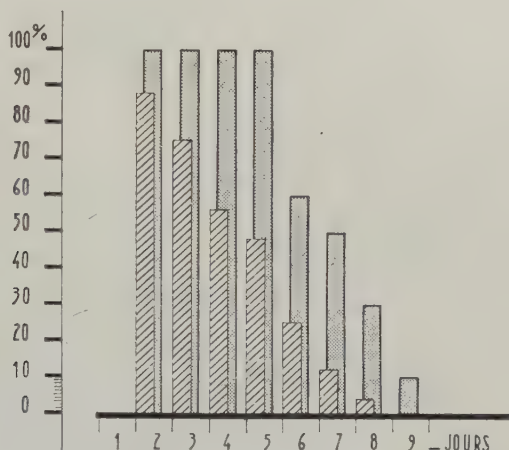


FIG. 9. — Survie du cobaye dans la parabiose rat-cobaye dont le cobaye a reçu une injection de gamma-globulines.

////// courbe de l'évolution spontanée.
 courbe de survie des animaux traités.

DISCUSSION DES RÉSULTATS.

HALPERN pense que l'effet des gamma-globulines est le plus net lorsqu'elles sont administrées avant, simultanément, ou peu après les anticorps. Si l'intervalle de temps entre l'injection des anticorps et celle des gamma-globulines dépasse plusieurs heures, l'effet protecteur s'émousse. L'analyse quantitative du phénomène suggère que l'action protectrice des gamma-globulines à l'égard des phénomènes de sensibilisation, relève vraisemblablement d'une compétition entre gamma-globulines non spécifiques et anticorps au niveau des mêmes structures cellulaires.

Ceci nous permet de comprendre pourquoi la mort n'intervient qu'à partir du 6^e jour, car d'une part l'effet protecteur s'émousse, et d'autre part, la quantité d'anticorps présents augmente avec le temps.

8. — Influence des antimétabolites sur l'évolution de la parabiose.

Nous verrons au dernier chapitre que certains antimétabolites stimulent la production d'anticorps par un mécanisme mal défini (Myle-

ran, Thiotepa) et que d'autres la dépriment. Nous avons essayé d'utiliser ces propriétés pour modifier l'évolution de la parabiose.

Le Cobaye reçoit du Myleran qui doit stimuler la synthèse des anticorps et le rat du chloraminophène qui doit la déprimer. Deux groupes témoins sont constitués par des cobayes traités avec du Myleran accouplés à des rats neufs — et des Rats traités avec du chloraminophène accouplés à des cobayes neufs.

PROTOCOLE. — Les rats reçoivent une injection intrapéritonéale de 0,12 mg de chloraminophène, répétée pendant 10 jours avant la parabiose.

TABLEAU XII.

*Survie du cobaye dans la parabiose rat-cobaye
dont un animal ou les deux sont traités par des antimétabolites.*

Temps écoulé depuis l'opération	Nombre de cobayes morts	Mortalité %	Survie %	N° des parabioses des cobayes morts
I. — Cobaye recevant du Myleran et rat normal (7 couples en parabiose)				
2 jours.....	2	28	62	(185, 210)
3 »				
4 »				
5 »	1	43	57	(208)
6 »	2	71	29	(205, 211)
7 »	1	86	14	(184)
8 »				
9 »				
10 »	1	100	0	(186)
II. — Rat traité par du chloraminophène et cobaye normal (7 couples en parabiose)				
2 jours.....	2	28	62	(221, 225)
3 »				
4 »				
5 »	1	43	57	(226)
6 »	2	71	29	(200, 224)
7 »	1	86	14	(222)
8 »	1	100	0	(204)
III. — Cobaye traité par du Myleran et rat traité par du chloraminophène (2 couples en parabiose)				
2 jours.....	2	18	82	(193, 228)
3 »	2	36	64	(194, 227)
4 »	1	45	55	(230)
5 »	1	56	44	(235)
6 »				
7 »				
8 »	4	91	9	(191, 199, 196, 198)
9 »	1	100	0	(197)

Les cobayes reçoivent dans les mêmes conditions 0,25 mg de Myleran.

RÉSULTATS. — Ils sont indiqués dans le tableau XII, et la figure 10.

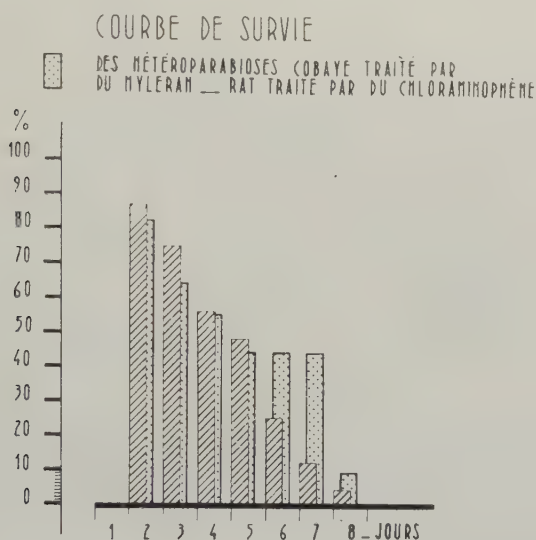


Fig. 10. — Survie du cobaye dans la parabiose rat-cobaye dont le cobaye est traité par du Myleran et le rat par du chloraminophène.

[//////] courbe de l'évolution spontanée.

[.....] courbe de survie des animaux traités.

CONCLUSIONS.

Malgré une certaine amélioration de la survie au 6^e et 7^e jours, le résultat final n'est guère amélioré par rapport aux expériences témoins. Les doses d'antimétabolites utilisées ont été calculées d'après les doses utilisées en clinique humaine pour avoir le maximum d'efficacité sans atteindre la toxicité.

III. — Influence des différents traitements sur les constantes biologiques des animaux en parabiose.

1. — Variations hématologiques observées dans les parabioses Rat-Mérion traitées par le Phénergan.

Au cours de l'évolution de la parabiose Rat-Mérion traitée par le Phénergan, nous avons suivi les variations hématologiques. Nous ne connaissons pas les variations d'une parabiose rat-mérion non traitée,

mais nous venons de voir au chapitre 1, 87, que dans le cas du couple Rat-Cobaye, des variations restent discrètes et sans relation avec l'évolution de la parabiose. Nous admettrons, avec beaucoup de vraisemblance qu'il en est de même ici.

RÉSULTATS. — Ils sont groupés dans le tableau C joint en annexe.

CONCLUSIONS. — On note dans certains cas une anémie assez nette, et la mort de l'animal est survenue peu après :

R 26 au 6^e jour, 980.000 mort le même jour

M 27 au 6^e jour, 1.910.000 mort au 6^e jour

R 30 au 2^e jour, 3.800.000 mort au 4^e jour

Mais on n'observe pas d'anémie de façon constante chez l'animal qui va mourir. De plus, on note une augmentation de l'hématocrite très nette chez certains animaux dans le sang prélevé au moment de la mort, ce qui semble indiquer une diminution de la masse sanguine en période terminale.

2. — Etude électrophorétique des sérums prélevés chez des animaux diversement traités.

Les quelques résultats que nous avons obtenus et qui sont insérés en annexe (tableau D) sont assez hétérogènes. Les groupes sont trop petits pour que l'on attribue une valeur aux différences observées par rapport aux animaux témoins. Nous ne pensons pas que cette étude mérite d'être étendue.

3. — Hétérohémagglutinines formées au cours de la parabiose réalisée après injection de substance polysidique.

Nous avons vu (chapitre II, paragraphe 1) l'influence remarquable des substances polysidiques sur l'évolution de la parabiose, et nous nous sommes interrogés sur leur mode d'action. Afin de mettre en évi-

TABLEAU XIII.

N° du sérum	Titre obtenu vis-à-vis de GR de l'espèce partenaire	Temps écoulé depuis l'opération	Observation
R 63	1/160	5 jours	le cobaye est mort
R 52	1/160	5 «	«
R 51	1/80	6 «	«
R 128	1/10	6 «	«
R 53	1/320	7 «	«
R 65	0	7 «	«
R 133	1/10	8 «	«
R 62	0	9 «	«
R 69	1/20	après 4 jours de parabiose et 3 jours de séparation	«
GP 67	1/2500	12 jours	Le rat est mort

dence leur intervention en tant qu'inhibiteurs par compétition du système formateur d'anticorps, nous avons recherché s'il y avait modification du titre des hétérohémagglutinines sériques à la fin de la parabiose par rapport aux valeurs que nous avons déterminées dans les parabioses évoluant spontanément.

RÉSULTATS. — Ils figurent dans le tableau XIII.

Les membres du couple (66) qui avaient reçu une injection de substance polyosidique 5 jours avant la parabiose se sont séparés spontanément au bout de 15 jours. Le titre de l'hétéroagglutinine du sérum de rat est de 1/20. On injecte alors au rat 1 cm³ de sérum de cobaye : huit jours après le titre est de 1/160.

CONCLUSIONS.

La diminution du titre des hétéroagglutinines est remarquable chez le rat qui, au moment où le cobaye meurt possède en général un titre assez élevé, dans les parabioses non traitées. Ce blocage n'est pas permanent, puisque le Rat 66 a répondu à une injection de sérum de cobaye par une augmentation du titre de ses agglutinines. Il s'agit là d'une réponse secondaire de moyenne amplitude, à une seule réinjection antigénique.

Pour essayer d'expliquer l'inhibition de la synthèse des hémagglutinines par la substance polyosidique, nous avons fait des absorptions *in vitro*.

C'est ainsi que le sérum du rat 90 qui titre 1/5000 vis-à-vis de globules rouges de cobaye, est mis en présence du polyoside dans les proportions suivantes : 4 gouttes de sérum + la quantité de polyoside correspondant à 1 g. de cobaye.

On titre ensuite l'agglutinine restée libre, le titre n'est pas modifié, le polyoside de cobaye n'absorbe pas *in vitro* l'agglutinine antiglobules rouges de cobaye.

Dans les mêmes conditions, l'agglutinine anti globules rouges de rat présente dans le sérum du cobaye GP 130, n'est pas absorbée par la substance polyosidique de Rat.

(Le rat 90 est resté en parabiose 9 jours avec un cobaye sans traitement préalable — le cobaye 130 avait été préimmunisé avec du sang de rat (voir chapitre suivant).

On peut donc penser que le polyoside empêche la formation de l'agglutinine, plus qu'il ne neutralise cette dernière une fois formée.

Conclusions de la première partie.

Parmi les résultats que nous avons obtenus et exposés dans la première partie de ce mémoire, certains sont en accord avec ceux habituellement observés dans l'étude des parabioses iso-spécifiques, pratiqués depuis Paul BERT (1862). Cet auteur avait d'ailleurs aussi réalisé des parabioses hétéro-spécifiques rat-cobaye et rat-chat, mais sans s'y attarder davantage.

L'intoxication parabiotique reste un phénomène encore mal expliqué et l'on connaît peu les analogies qu'elle peut présenter avec les

atteintes fœtales par iso-immunisation, la maladie hémolytique du muleton, notamment. On peut aussi rapprocher cette intoxication des phénomènes observés chez le rongeur nouveau-né ayant été fortement irradié et auquel on injecte des cellules médullaires d'un autre animal : l'animal a un aspect rabougri.

En dépit des recherches immunologiques et hématologiques, il est difficile de dégager les mécanismes qui conduisent à la mort.

Au cours de notre expérimentation, nous avons observé dans le cas des parabioses rat-cobaye ou des parabioses rat-mérion, que c'était toujours le rat qui survivait. Mais il pourrait se faire que dans des parabioses de rat avec d'autres espèces, ce soit alors le rat qui meure.

L'étude sérologique et hématologique nous a montré des variations peu nettes. Dans certains cas, cependant, on peut associer l'anémie et la mort, ou la présence d'hétérohémagglutinines et la mort. Il est difficile d'affirmer néanmoins que ce sont les anticorps ainsi formés qui entraînent la mort.

Contrairement à ce qu'avaient observé d'autres auteurs, nous avons vu que le Phénergan influençait favorablement nos résultats.

Les antimétabolites n'ont que peu d'action sur l'évolution. Par contre, l'injection de gamma globulines humaine au cobaye ou de cortisone au rat prolonge la survie du cobaye.

L'utilisation d'une substance polysidique d'origine animale nous a donné quelques résultats encourageants, mais nous ignorons si la spécificité de ce produit est stricte ou s'il est possible d'utiliser des substances préparées à partir d'autres espèces animales. Ce fait sera intéressant à contrôler.

La chirurgie humaine commençant à peine à utiliser les homogreffes dans des cas bien limités et définis, il est certain que ce seront les homogreffes qui présentent à l'heure actuelle une grande importance. Néanmoins, le problème de leur tolérance est loin d'être bien étudié. Du point de vue de l'application clinique, les hétérogreffes n'ont-elles qu'un intérêt réduit, car leur acceptation semble à l'heure actuelle impossible. Si nous avons néanmoins utilisé l'hétérogreffe entre espèces différentes, c'est parce que lorsque l'on met en parabiose deux animaux de même espèce, les phénomènes évoluent lentement, les résultats sont beaucoup plus facilement observables dans le cas des hétéroparabioses, particulièrement lorsqu'il s'agit d'apprécier l'efficacité d'un traitement. Il nous est maintenant loisible de rechercher si les techniques qui modifient l'évolution des hétéroparabioses ont la même influence sur les homoparabioses, après avoir trouvé un système analogue au système rat-cobaye, dans lequel ce serait toujours le rat appartenant à une souche donnée qui mourrait.

DEUXIEME PARTIE.

RÉACTIONS SÉRIQUES MISES EN ÉVIDENCE APRÈS INJECTION DE GLOBULES ROUGES A DIFFÉRENTES ESPÈCES ANIMALES. INFLUENCE DES ANTIMÉTABOLITES.

L'hétéroparabiose telle que nous l'avons étudiée, dans le premier chapitre est un système complexe et par là même difficile. Tout en conservant un système hétérologue se rapportant aux réactions d'un animal vis-à-vis d'antigènes d'une autre espèce, nous avons voulu examiner un phénomène plus simple et plus aisément observable, la formation d'hétérohémagglutinines après injection d'hématies d'une espèce à une autre. Comme on connaît l'action de certains antimétabolites sur le rejet des greffes, nous examinerons ensuite en quoi l'administration de ces substances peut modifier la formation des hétérohémagglutinines.

Nous avons donc établi chez les témoins les taux d'hémagglutines formées dans des conditions expérimentales bien définies puis nous avons utilisé certains antimétabolites efficaces en clinique humaine pour voir comment cette immunisation était modifiée.

I. — Formation des hétérohémagglutinines chez divers animaux de laboratoire.

Deux types de protocoles ont été utilisés : dans un 1^{er} temps, nous avons pris le poulet comme animal d'expérience parce qu'il présente l'avantage de répondre rapidement à un stimulus antigénique unique. Dans un 2^e temps, nous nous sommes adressés à d'autres espèces animales (lapin, rat, cobaye) chez lesquelles il est nécessaire de multiplier les injections d'antigène.

Protocole.

Chez les poulets, nous avons opéré sur des lots de cinq ou six animaux de 1500 g. environ.

Les animaux reçoivent par voie intraveineuse 0,1 ml de globules rouges humains du groupe O en suspension dans l'eau physiologique. On effectue le prélèvement de sang par ponction cardiaque avant l'injection de la suspension antigénique, ainsi qu'au cinquième et dixième jours.

Les échantillons de sang ont été recueillis sur héparine, le plasma est séparé après centrifugation ; ceci permet d'obtenir une plus grande quantité de l'échantillon étudié qu'avec le sang coagulé, car la rétraction du caillot ne fournit qu'une faible quantité de sérum.

Les rongeurs ne répondant pas de façon notable à une seule injection antigénique, nous avons répété les injections par voie intraveineuse deux fois par semaine, selon le protocole suivant :

au lapin, on injecte 3 cm³ d'une suspension au 1/20^e de globules rouges O lavés trois fois dans de l'eau physiologique,

au Rat et au Cobaye, on injecte 0,5 cm³ de la même suspension par voie intracardiaque (animal anesthésié à l'éther).

La répétition des injections intraveineuses aboutit à un état d'immunisation assez net, particulièrement si un traitement par les antimétabolites est associé. D'où la nécessité d'éviter les chocs au moment de l'injection de globules rouges par administration de Phénergan aux doses suivantes :

pour les lapins, 3 fois 15 mg par voie intramusculaire à 1/4 d'heure d'intervalle. On injecte ensuite les globules rouges un quart d'heure après.

pour les rats et les cobayes, on injecte 3 fois 4 mg par animal.

Cette désensibilisation est à faire dès la 4^e injection. Elle est de durée limitée, le cobaye la conserve quelques semaines, le lapin 70 à 75 jours. Si l'on a à répéter l'injection antigénique, il faut désensibiliser à nouveau.

Techniques du titrage.

Le titrage de l'hémagglutinine se fait par dilutions successives du plasma ou du sérum dans de l'eau physiologique et sous un volume de 0,5 ml et contact avec une suspension à 2 % de globules rouges lavés provenant d'un donneur du groupe O. On apprécie le titre de l'agglutination après centrifugation pendant 3 min. à 1000 tours.

Le sérum de rat ne présente qu'un faible pouvoir agglutinant vis-à-vis de globules rouges O humains non traités. Nous avons été amenés à utiliser des globules rouges papainés à 37° pendant une heure selon la technique utilisée pour rechercher les hémagglutinines irrégulières.

On dilue dans 1 cm³ d'eau physiologique stérile la poudre de papaine continue dans l'ampoule fournie par l'Institut Pasteur. On ajoute 0,5 cm³ d'une suspension à 50 % dans de l'eau physiologique. On laisse en contact au bain-marie à 37° pendant une heure, la solution contenant enzyme + globules rouges, on lave 2 fois et on réalise une suspension finale à 2,5 % dans de l'eau physiologique stérile.

On effectue pour chaque sérum, une série de dilution de 1/6 à 1/800 dans de l'eau physiologique stérile en tube à hémolyse sous un volume de 0,6 cm³.

On ajoute dans les tubes de la dilution 2 gouttes de la suspension de globules O Rh+.

On laisse en contact au bain-marie à 37° une heure et on lit les résultats macroscopiquement à l'aide d'un miroir de Kahn, en se tenant au-dessus du bain-marie et en soulevant les tubes un à un pour éviter le refroidissement et l'apparition d'agglutination non spécifique.

L'absence d'agglutination est caractérisée par la présence d'un culot globulaire non crénelé qui se dissocie facilement par agitation.

Résultats.

On trouvera les chiffres normaux dans le tableau XIV.

TABLEAU XIV.

Formation des hétérohémagglutinines après injection de globules rouges O humains à divers animaux de laboratoire.

N°	Titre avant injection	Titre au 5 ^e j	Titre au 10 ^e j
I. — <i>Injection au poulet</i>			
P 24....	160	5.120	1.280
P 25....	160	5.120	5.120
P 26....	320	5.120	5.120
p 27....	640	20.000	5.120
P 28....	80	5.000	5.120
P 29....	640	1.280	1.280
	Titre avant injection	Titre au 18 ^e j	Titre au 25 ^e j
II. — <i>Injection au lapin</i>			
L 7....	40	40.000	5.000
L 8....	10	10.000	2.500
L 9....	20	40.000	20.000
L 10....	20	10.000	5.000
L 11....	10		5.000
L 12....	inf. à 10	10.000	
L 13....	inf. à 10	10.000	
L 14....	inf. à 10		2.500
L 16....	inf. à 10	2.500	5.000
	Avant	18 ^e jour	25 ^e jour
III. — <i>Injection au cobaye</i>			
GP1....	inf. à 10	640	640
GP3....		320	320
GP4....		1.240	320
GP5....		320	40
GP7....		640	640
GP8....		640	160
GP9....		1.250	320

Rats témoins	Avant	18 ^e jour	25 ^e jour
IV. — <i>Injection au rat</i> Titration vis-à-vis de globules rouges 0 non traités			
R 1....	inf. à 10	80	320
R 2....		40	80
R 3....		10	
R 4....		80	20
R 5....		80	20
R 21....		20	inf. à 10
R 22....		10	inf. à 10
R 23....		inf. à 10	inf. à 10
R 24....		80	80
R 25....		10	inf. à 10
R 26....		40	inf. à 10
R 27....		20	160
R 28....		inf. à 10	inf. à 10
R 29....		160	360
R 30....		80	80
Rats témoins	Avant	18 ^e jour	25 ^e jour
Titration vis-à-vis de globules rouges 0 papainés			
R 21 ...	inf. à 10		40
R 22 ...		2.500	80
R 23 ...		1.250	1.250
R 24 ...		1.250	160
R 25 ...			80
R 26 ...			40
R 27 ...		320	1.250
R 28 ...		10	40
R 29 ...		1.250	1.250

II. — Influence des antimétabolites sur la formation des hétérohémagglutinines.

L'action des antimétabolites sur le rejet des greffes est certaine, mais d'une part elle peut être favorable ou défavorable, d'autre part on ignore quel peut être le mécanisme de leur action.

L'histologie nous montre parfois des images de souffrance tissulaire que l'on n'observe pas à l'état normal et que l'on peut attribuer à une toxicité locale de l'antimétabolite. De plus, comme on admet classiquement que les antimétabolites inhibent la synthèse protéique en s'introduisant à un stade donné dans la chaîne des réactions de synthèse, on peut penser que ces médicaments ont une action dépressive sur la formation des anticorps.

Dans un premier temps, en utilisant le poulet comme animal d'expérience, nous avons étudié cinq antimétabolites à action clinique certaine et à spécificité tumorale très diverse. Le poulet, nous l'avons vu, répond rapidement à un stimulus antigénique unique, ce qui permet d'apprécier très aisément l'action des inhibiteurs.

Dans un deuxième temps, nous avons répété l'expérience sur des groupes d'animaux d'autres espèces (lapin, rat, cobaye), afin de vérifier si les substances qui possédaient une activité inattendue chez le poulet conservaient cette même action, quelque soit l'animal utilisé.

Dans cette expérience et l'expérience du chapitre III, les substances essayées ont été les suivantes :

— parmi les antimétabolites : la 6-mercaptapurine, indiquée dans le traitement de la leucose aiguë ;

— parmi les agents alkylants :

dérivés à groupement bêta-chloréthyle ou moutardes, en particulier dans la série aromatique : le Chlorambucil (ou CB 1348, ou Chloraminophène) = acide para bis bêta-chloro-éthyl-amino-phényl-butyrique indiqué principalement dans le traitement de la leucose lymphoïde chronique ;

dérivés à groupements éthylène-imine : parmi les phosphoramides, le Thiotepa ou N N'N'' triéthylène-thiophosphoramide, efficace dans différents cancers. Le 6870 RP ou E39 : di(n propoxy), 2,5 di éthylène imino) ; 3,6 benzoquinone 1,4 — à activité antitumorale) ;

dérivés à groupements ester-sulfonique : le Myleran ou di-méthyl-sulfonyl-4-butane, à action élective sur la série myéloïde ;

— parmi les antibiotiques : l'Actinomycine D, à pouvoir cytostatique incontestable sur l'animal.

Les antimétabolites sont des substances chimiques dont la constitution est très voisine des métabolites naturels : agissant par compétition avec ceux-ci, ils sont capables d'entraver la biosynthèse des acides nucléiques.

Les agents alkylants sont définis comme susceptibles de réaliser le blocage par alkylation de divers groupements, notamment les groupements COOH, PO₄, NH₂, OH et SH présents dans les protéines et les nucléoprotéines. Le blocage de ces groupements conduit à des lésions biochimiques et provoque en particulier la dénaturation de l'acide désoxyribonucléique qui constitue une cible de choix pour les composés de ce type.

Les doses utilisées et les modalités d'administration sont le reflet de celles pratiquées en clinique humaine, puisque celles-ci ont été déterminées de façon à obtenir un effet anti-tumoral maximum, sans atteindre l'effet toxique (aplasie médullaire).

Nous allons rapporter brièvement les résultats obtenus par divers auteurs.

SCHWARTZ, EISNER et DAMESHEK (1959) ont montré que l'administration de 6-mercaptapurine à des lapins à la dose de 6 mg par kg par jour entraîne un blocage complet de la première réponse immuno-

logique à un antigène protéique soluble. Au-dessous de cette dose, une relation linéaire existe entre l'intensité de la réponse immunologique et la dose. Lorsqu'il existe un blocage complet de la réponse immunologique primaire, il y a blocage partiel de l'apparition de la réponse secondaire.

Par contre, ROBINSON et CHRISTIAN (1960) ont renouvelé ces essais sur des lapins et n'ont pas obtenu de tolérance immunologique vis-à-vis de l'ovalbumine ni réussi des homogreffes.

KONG-OO, MILLER et DIAMOND (1961), vis-à-vis d'albumine humaine et de gamma globuline marquée à l'I¹³¹ ont pu mettre en évidence chez le lapin une suppression de la réponse primaire par la 6-mercaptopurine, mais non de la réponse secondaire lors de la seconde stimulation antigénique, sauf chez certains animaux pauvres producteurs d'anticorps, chez lesquels la 6-mercaptopurine réussissait à supprimer la synthèse de ceux-ci. En général, un mois après l'injection de l'antigène, les animaux avaient récupéré toutes leurs capacités immunologiques, sauf les animaux mauvais producteurs d'anticorps, chez lesquels une certaine paralysie immunologique subsiste. On note une mortalité assez forte à la suite de l'administration de la 6-mercaptopurine (40 % chez les animaux recevant 6 mg par kg pendant 14 jours).

BERENBAUM (1960) indique que l'on peut inhiber la production d'anticorps chez la souris par des substances à activité antitumorale nette comme la triéthylène mélanine, la 6-mercaptopurine et le chlorambucil. Il pense que la dépression de la réponse immunitaire par les agents antimitotiques serait due seulement à leur effet inhibiteur sur la mitose.

Il nous a semblé intéressant de voir si les substances antimétabolites possédaient toutes ce pouvoir dépressur et si ces propriétés n'étaient pas variables selon l'espèce animale.

Protocole.

Les doses d'antimétabolites utilisées sont les suivantes : Chez le Poulet : la 6-mercaptopurine a été administrée par voie intramusculaire à raison de 2,5 mg par jour et par animal au rythme de 8 injections chaque jour avant l'injection de l'antigène, et 9 injections après. Les échantillons de sang ont été prélevés aux mêmes dates que chez les témoins.

Le Chloraminophène a été injecté par voie intramusculaire à raison de 0,5 mg par jour et par poulet, 12 injections avant et 9 après.

Le Thiotepa a été injecté à raison de 3 mg par poulet par voie intrapéritonéale, pour le premier et le deuxième jour, et 1,5 mg aux troisième, sixième, septième et huitième jours. La suspension antigénique a été injectée au quatrième jour et les prélèvements faits au 9^e et au 14^e jours.

Le Myleran a été injecté à raison de 1 mg par jour par poulet par voie intramusculaire, douze fois avant la suspension antigénique et neuf fois après.

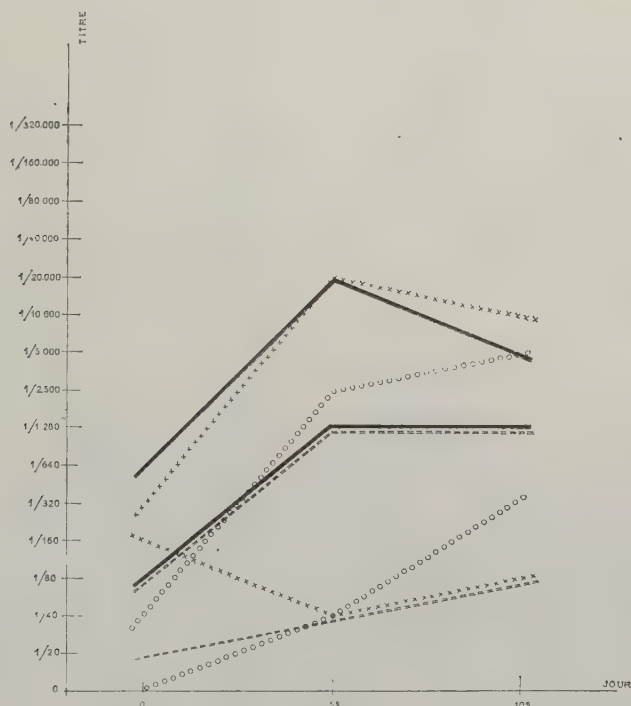
TABLEAU XV.

*Formation des hétérohémagglutinines chez le Poulet
traité par divers antimétabolites.*

	Titre avant injection	Titre au 5 ^{me} j	Titre au 10 ^{me} j
I. — Animaux recevant du Myleran :			
P 18.....	80	10.000	2.500
P 19.....	20	2.500	40.000
P 20.....	40	320.000	80.000
P 21.....	40	40.000	2.500
P 22.....	80	10.000	2.500
P 23.....	20	40.000	5.000
II. — Animaux recevant du Thiotepa :			
P 12.....	80	40.000	10.000
P 13.....	160	10.000	5.000
P 14.....	80	80.000	160.000
P 15.....	320	40.000	5.000
P 16.....	160	80.000	80.000
P 17.....	640	80.000	320.000
III. — Animaux recevant de la 6 mercaptopurine :			
P 30.....	40	40	640
P 31.....	20	640	320
P 32.....	10	1.280	2.500
P 33.....	40	2.500	1.280
P 34.....	40	320	5.000
IV. — Animaux recevant du Chlorambucil :			
P 7.....	160	5.120	2.500
P 8.....	160	40	80
P 9.....	160	20.000	10.000
P 10.....	320	5.120	640
P 11.....	manque	5.120	1.280
V. — Animaux recevant l'Actinomycine D :			
P 36.....	20	160	640
P 37.....	20	40	80
P 38.....	40	160	1.280
P 39.....	40	1.280	640
P 40.....	80	320	1.280

Au Rat et au Cobaye : le Myleran est injecté à la dose de 0,25 mg par cobaye de 250 g par voie intrapéritonéale, tous les jours, en commençant une semaine avant la première injection antigénique.

Le Thiotépa est injecté aux doses de 0,1 mg par animal, pendant 8 jours, l'immunisation commençant après la 4^e injection.



VARIATIONS DES HEMAGGLUTININES
CHEZ LES POULETS RECEVANT DES ANTIMETABOLITES

—	ZONE DES POULETS TÉMOINS
x x x x x	" " " " RECEVANT DU CHLORAMINOPHÈNE
- - - - -	" " " " DE L'ACTINOMYCINE D
o o o o o	" " " " LA 6-MERCAPTOPYRIMINE

FIG. 12. — Influence des antimétabolites sur la formation des hétérohémagglutinines chez le poulet.

Résultats.

Chez le Poulet, ils sont consignés dans le tableau XV et les figures 11 et 12.

TABLEAU XVI.
*Influence des antimétabolites sur la formation
des hétérohémagglutinines.*

	Titre avant injection	Titre au 18 ^e j.	Titre au 25 ^e j.
I. — Chez les lapins recevant le Myleran			
L 1.....	inf. à 10	10.000	
L 2.....	10	10.000	160.000
L 3.....	10	10.000	80.000
L 18.....	inf. à 10	5.000	80.000
L 19.....	inf. à 10	40.000	20.000
L 20.....	inf. à 10	20.000	
L 22.....	inf. à 10	160.000	40.000
II. — Chez les lapins recevant du Thiotépa			
L 23.....	non déterminé	80.000	20.000
L 24.....		40.000	40.000
L 25.....		80.000	80.000
L 26.....		20.000	160.000
L 27.....		160.000	80.000
L 28.....		80.000	160.000
III. — Chez les cobayes recevant le Myleran			
GP 61.....		2.500	1.250
GP 65.....		1.250	640
GP 67.....		640	640
GP 68.....		320	
GP 69.....		320	320
IV. — Chez les cobayes recevant le Thiotépa			
GP 51.....		5.000	
GP 52.....		1.250	320
GP 54.....		2.500	2.500
GP 55.....		2.500	
GP 57.....		10.000	20.000
GP 59.....		10.000	sup. à 20.000
GP 71.....		640	1.250
GP 72.....		1.250	1.250
GP 73.....		1.250	1.250
GP 75.....		1.250	
V. — Chez les rats recevant le Myleran (titrage vis-à-vis de G.R non traités)			
R 31.....		40	20
R 32.....		40	10
R 33.....		20	80
R 34.....		inf. à 10	
R 35.....		40	10
R 36.....		640	640
R 37.....		20	
R 38.....		640	640
R 40.....		1.250	640

L23, L24, et L25 ont été immunisés et titrés avec les globules rouges O. L26, L27 et L28, avec des globules rouges B.

	Titre avant injection	Titre au 18° j	Titre au 25° j
VI. — Chez les rats recevant le Thiotépa (titrage vis-à-vis de G.R. non traités)			
R 41.....	inf. à 10	80	40
R 43.....		inf. à 10	inf. à 10
R 44.....		inf. à 10	inf. à 10
R 46.....		inf. à 10	inf. à 10
R 47.....		40	60
R 49.....		40	inf. à 10
R 50.....		320	inf. à 10
VII. — Chez les rats recevant le Myleran (titrage vis-à-vis de G.R. papainés)			
R 31.....		2.500	1.250
R 32.....		5.000	1.250
R 33.....		2.500	10.000
R 34.....		10	
R 35.....		2.500	
R 36.....		80.000	160.000
R 37.....		40.000	
R 38.....		40.000	160.000
R 40.....		40.000	160.000
VIII. — Chez les rats recevant le Thiotépa (titrage vis-à-vis de G.R. papainés)			
R 41.....		10.000	1.250
R 42.....		5.000	
R 43.....		1.250	2.500
R 44.....		1.250	160
R 45.....		20.000	
R 46.....		5.000	
R 47.....		5.000	20.000
R 48.....		1.250	
R 49.....		5.000	
R 50.....		20.000	10.000

Discussion des résultats obtenus chez le Poulet.

Les animaux témoins répondent de manière assez homogène au stimulus antigénique. Le titre de l'agglutinine atteint son maximum au cinquième jour et on trouve la même valeur au dixième jour.

Les animaux traités peuvent être divisés en deux groupes :

dans le premier groupe, les animaux présentant une diminution du titre de l'agglutinine par rapport aux témoins : il en est ainsi après traitement par la 6 mercaptopurine, le Chlorambucil et l'Actinomy-cine D.

Les animaux traités au Chlorambucil ont une position intermédiaire, puisque le titre de l'agglutinine observé au cinquième jour est voisin de celui observé chez les témoins, mais il y a une diminution très nette au dixième jour.

L'Actinomycine D provoque une très nette diminution du titre de l'agglutinine, bien que le titre au dixième jour soit supérieur à celui observé au cinquième.

INFLUENCE DES ANTIMETABOLITES SUR LA FORMATION D'HETEROAGGLUTININES CHEZ LE RAT

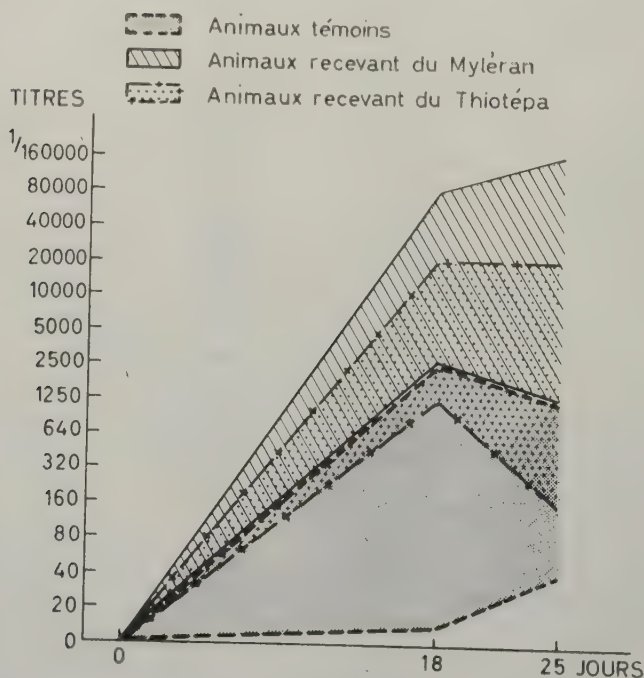


Fig. 13. — Influence des antimétabolites sur la formation d'hétéro-agglutinines chez le lapin.

Chez les animaux traités à la 6 mercaptopurine, on trouve un titre inférieur aux témoins, ce titre a la même valeur au cinquième et au dixième jour.

Ces résultats étaient prévisibles d'après les observations antérieures, par contre l'augmentation du titre de l'agglutinine après traitement par certains agents ne pouvait pas être soupçonnée.

Ainsi les animaux traités avec le Myleran ou le Thiotépa, présentent une très forte augmentation du titre au cinquième jour dont la valeur atteint 1/80.000 pour la moitié d'entre eux. Il y a au dixième jour augmentation de ce titre pour certains animaux et diminution pour d'autres.

INFLUENCE DES ANTIMETABOLITES SUR LA FORMATION
D'HÉTÉROAGGLUTININES CHEZ LE COBAYE

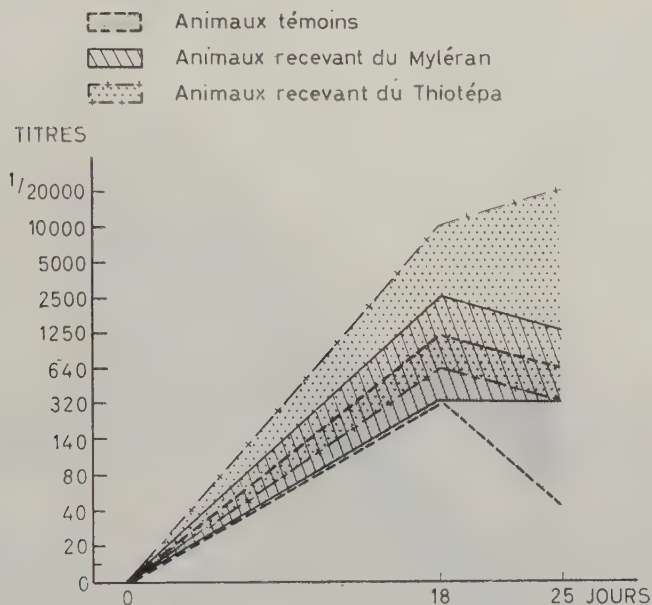


FIG. 14. — Influence des antimétabolites sur la formation d'hétéro-agglutinines chez le cobaye.

Il n'est pas obligatoire a priori que ces phénomènes observés chez le poulet s'observent chez d'autres espèces animales. Nous savons en effet, que le Poulet possède un organe lymphoïde spécial, la Bourse de Fabricius, absent des autres espèces animales et qui lui confère une réactivité immunologique particulière. Nous avons donc poursuivi l'expérience en utilisant des lapins, des rats et des cobayes traités avec du Myleran et du Thiotépa.

Les résultats obtenus chez le lapin, le rat et le cobaye sont rapportés dans le tableau XVI et les figures 13, 14 et 15.

Discussion des résultats obtenus chez le lapin, le cobaye et le rat :

Nous voyons que Myleran et Thiotépa stimulent très fortement l'immunisation du lapin, du cobaye et du rat.

Sous l'influence de ces deux antimétabolites, le taux d'agglutinines peut atteindre chez le lapin le 1/160.000 (dans 5 cas).

Le Myleran est plus actif que le Thiotépa chez le cobaye.

INFLUENCE DES ANTIMETABOLITES SUR LA FORMATION
D'HETEROAGGLUTININES CHEZ LE LAPIN

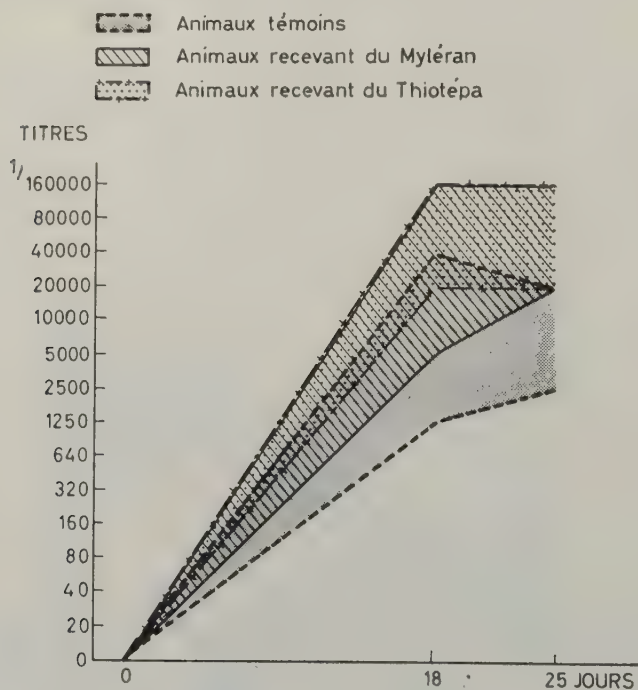


FIG. 15. — Influence des antimétabolites sur la formation d'hétéroagglutinines chez le rat (déterminées en présence de globules rouges papainés).

Chez le rat, la stimulation est intéressante sous l'influence des deux produits, le Myleran permet (dans 3 cas) d'atteindre des titres 1/160.000.

CHAPITRE III.

III. — Modification des protéines sériques sous l'influence de l'immunisation par des globules rouges humains et de l'administration d'antimétabolites.

Assez peu de travaux concernent l'électrophorèse des sérums animaux et les altérations introduites par l'immunisation.

WILDFUEHR, NAUMANN et WILDE (1959) ont étudié le sérum de Rat, HUDGINS, CUMMINGS et PATNODE (1956), les sérums de Lapin, de Cobaye et de Rat après administration de BCG.

Si l'on admet que les antimétabolites introduisent une perturbation dans la synthèse des protéines, on pourrait s'attendre à des répercussions sur l'image électrophorétique des sérums des animaux traités. Nous avons donc soumis à l'électrophorèse les échantillons de sérum prélevés avant, au 18^e et au 25^e jour de l'expérience.

Technique.

Les bandes de papier (Schleicher et Schüll N° 2043aMgI) sont tendues horizontalement entre deux cuves de tampon au véronal (pH 8,6). On dépose à la pipette un nombre de mm³ de sérum déterminé par la teneur en protéines totales du sérum, suivant un trait de 3 cm perpen-

TABLEAU XVII.

*Modification des protéines sériques sous l'influence de l'immunisation
par des globules rouges humains.*

	Alb.	α_1	α_2	β_2	γ
Chez le rat (animaux)					
Avant.....	42,3	13,0	9,8	22,0	12,9
18 ^e j.....	37,4	18,0	12,9	21,6	10,1
25 ^e j.....	39,4	14,3	7,4	24,0	14,9
Chez le lapin (9 animaux)					
Avant.....	60,1	12,0		10,8	17,1
18 ^e j.....	65,3	12,1		9,7	12,9
25 ^e j.....	60,3	12,0		10,7	17,1
Chez le cobaye (7 animaux)					
Avant.....	59,4	5,2	21,0	7,4	7,0
18 ^e j.....	51,4	5,2	25,6	7,1	10,7
25 ^e j.....	51,4	4,5	26,9	7,6	9,5

diculaire à l'axe de la bande et à 7 ou 8 cm de la cuve cathodique, et on soumet les bandes pendant 16 heures à un courant continu de 160 volts (pour une longueur de bande de 25 cm) dont l'intensité est réglée à 0,5 milliampère par bande de 4 cm de large.

Après coloration au vert de Lisamine à 0,3 % dans une solution aqueuse d'acide acétique à 15 % et élimination de l'excès de colorant par passage dans les bains successifs d'acide acétique à 2 %, la bande est séchée à l'air libre. On la rend transparente en la trempant dans un mélange de bromanophthalène et d'huile de paraffine et on la passe dans un intégraphe qui enregistre la courbe des absorptions et permet la détermination des différentes fractions.

TABLEAU XVIII.

Modification des protéines sériques sous l'influence de l'immunisation par des globules rouges humains et de l'administration d'antimétabolites.

	Alb.	α_1	α_2	β	γ
I. — Chez le rat recevant du Thiothépa (7 animaux)					
Avant.....	34,0	15,1	13,0	22,8	15,1
Au 18 ^e j.....	33,1	13,6	20,9	17,7	14,7
Au 25 ^e j.....	29,2	16,6	15,0	25,0	14,2
II. — Chez le rat recevant du Myleran (8 animaux)					
Avant.....	41,3	15,2	17,1	14,3	12,1
Au 18 ^e j.....	27,2	13,6	25,0	19,5	14,1
Au 25 ^e j.....	25,8	17,4	22,6	19,2	15,0
III. — Chez les lapins recevant du Thiotépa (6 animaux)					
Avant.....	61,3	6,2	7,0	10,1	15,4
Au 18 ^e j.....	57,8	12,0	12,0	12,4	17,8
Au 25 ^e j.....	55,5	6,8	6,1	14,6	17,0
IV. — Chez les lapins recevant du Myleran (6 animaux)					
Avant.....	61,8	14,2	14,2	11,2	12,8
Au 18 ^e j.....	55,4	16,7	16,7	13,5	14,4
Au 25 ^e j.....	60,9	13,4	13,4	11,0	14,7
V. — Chez les cobayes recevant du Thiotépa (5 animaux)					
Avant.....	55,7	5,9	20,7	9,3	8,4
Au 18 ^e j.....	56,8	5,6	21,7	6,3	9,6
Au 25 ^e j.....	51,3	4,6	24,9	8,1	11,1
VI. — Chez les cobayes recevant du Myleran (5 animaux)					
Avant.....	54,7	5,0	21,0	12,0	7,3
Au 18 ^e j.....	52,6	4,1	26,8	7,6	8,9
Au 25 ^e j.....	52,3	6,9	25,0	8,9	6,9

Résultats.

Les moyennes obtenues dans chaque groupe sont rapportées dans les tableaux XVII et XVIII (les valeurs individuelles sont jointes en annexe, tableau D).

Nous avons étudié statistiquement les variations individuelles observées au cours de l'immunisation avec ou sans traitement par les antimétabolites. Ces variations sont très irrégulières et rendent illusoires toute conclusion formelle.

Nous pouvons seulement noter que les lapins immunisés présentent une baisse du taux des gamma-globulines, alors que chez les animaux traités par le Myleran et le Thiotépa, la variation des gamma-globulines est sensiblement nulle.

Chez les rats, on observe une chute des albumines chez les animaux traités au Myleran.

Les valeurs observées chez le cobaye sont légèrement plus homogènes. L'immunisation seule augmente les α 2 et les γ et provoque la diminution des albumines, des α 1 et des β .

Le Thiotépa entraîne une augmentation moins forte des globulines, en particulier les α 2.

Le Myleran provoque une augmentation des α 2 au 25^e jour. Myleran et Thiotépa entraînent une diminution plus nette des β par rapport aux témoins.

Les grosses variations individuelles observées sont sans doute liées à l'hétérogénéité des groupes d'animaux utilisés, l'électrophorèse décelant des constantes individuelles différentes chez des animaux qui paraissent identiques à bien d'autres points de vue.

Conclusion.

La stimulation de la synthèse des hétérohémagglutinines sous l'influence du Myleran et du Thiotépa a été observée chez le Poulet, le Lapin, le Cobaye et le Rat. Mais on peut difficilement mettre en évidence une association entre cette augmentation et la variation d'une protéine sérique.

L'influence que semble posséder ces antimétabolites pourrait expliquer certains accidents post transfusionnels observés chez des malades soumis à un traitement antitumoral intense et polytransfusés.

On peut penser que ces antimétabolites ont une activité spécifique contre certaines lignées cellulaires, mais pourraient stimuler d'autres lignées.

TROISIÈME PARTIE.

ÉTUDE DE L'ACTION DES ANTIMÉTABOLITES SUR LES HOMOGREFFES.

Voulant comparer l'action des antimétabolites mise en évidence sur la formation des hétérohémagglutinines avec leur activité sur un autre système immunologique, nous avons été amenés à utiliser l'homogreffe cutanée chez le cobaye.

La peau, en tant qu'organe greffé, présente divers avantages. C'est un tissu dont les exigences métaboliques sont assez réduites (à la différence des greffes tumorales). La transplantation en position orthotopique, c'est-à-dire dans la position occupée par le lambeau de peau excisé, ne pose pas de problèmes chirurgicaux et on peut facilement suivre à l'œil nu ou par ponction biopsie, l'évolution de la greffe.

Nous savons néanmoins que la peau des mammifères ne renferme pas un nombre suffisant de cellules immunologiquement compétentes, et qu'une homogreffe cutanée n'est pas capable de développer une réaction de la greffe contre l'hôte. De plus, les greffes de cellules isolées peuvent provoquer, et éventuellement, subir une réaction très différente de celle qui est déclenchée par une homogreffe de tissus plus structurés qui réalisent des connexions vasculaires et lymphatiques avec leurs hôtes.

CHAPITRE I.

Evolution spontanée de l'homogreffe cutanée chez le cobaye.

Technique.

Les cobayes proviennent d'un élevage suffisamment hétérogène pour donner des réponses statistiquement constantes. Les animaux étaient tous femelles, d'approvisionnement plus facile. Les phénomènes observés seraient les mêmes, mais simplement décalés dans le temps, s'il s'agissait de cobayes mâles.

L'animal est anesthésié à l'éther, rasé de près sur le côté au niveau du thorax. Après désinfection de la peau à la teinture d'iode, puis à l'alcool à 70°, on détache au scalpel en s'aidant d'une pince, trois

lanière contiguës de peau, en cherchant à rester juste au-dessus des couches musculaires et d'éviter l'hémorragie. Les morceaux de peau sont conservés dans du sérum physiologique pendant l'opération. Avant de les remettre en place, on élimine soigneusement de leur surface interne, les restes musculaires adhérents, puis on les repose en les étalant sur la plaie, transversalement.

Chaque animal reçoit une autogreffe, et une ou plusieurs homogreffes de part et d'autre de l'autogreffe.

On recouvre la plaie d'une pulvérisation d'aéroxyl, on comprime avec une compresse pliée et on enveloppe le thorax de l'animal dans une bande plâtrée. On surveille la reprise de la respiration.

Conclusions de l'examen macroscopique et histologique.

Nous avons d'abord suivi l'évolution spontanée des homogreffes cutanées chez le cobaye normal, en enlevant le plâtre au bout du 6^e, 8^e, 10^e et 11^e jour, selon les groupes d'animaux. L'homogreffe, qui présente d'abord un aspect identique à celui de l'autogreffe voisine, devient ensuite œdématisée et hémorragique, pour finalement se nécroser. L'étude histologique aux différents stades montre l'évolution suivante :

au 6^e jour (4 cas), au niveau de l'homogreffe, ce qui frappe, c'est l'épiderme en bon état, une grosse capillarite avec infiltrat polymorphe, mais les parois des capillaires sont intactes, sans raptus vasculaire. L'autogreffe montre une hyperplasie épidermique importante, une capillarite très importante avec infiltrat inflammatoire massif, entraînant des ruptures vasculaires dans le derme moyen avec souffrance du derme sébacé. L'autogreffe semble plus altérée que l'homogreffe.

au 8^e jour (4 cas), l'épiderme de l'homogreffe est en règle générale épaissi au dépens de la couche granuleuse et de la couche à éladine. Les raptus des capillaires sont multiples dans le derme superficiel. Le réseau capillaire profond est congestionné. Des agrégats d'hématies sont visibles. La réaction inflammatoire très importante est faite d'histiocytes, de polynucléaires et de fibroblastes jeunes.

L'autogreffe est en excellent état, avec une néovascularisation plus ou moins importante. On observe une réaction fibroblastique intense au niveau du lit de l'autogreffe dans le derme profond.

Au 10^e jour (5 cas), l'homogreffe présente un épiderme acanthosique qui commence à se désintégrer. Les lésions épidermiques sont de degré variable, allant d'une simple altération de la couche muqueuse avec images d'exocytose jusqu'à l'élimination complète de l'épiderme. Les images les plus précoces de la souffrance épidermique semblent apparaître au niveau des annexes cutanées (follicules pileux). Les images de nécrose épidermique sont d'autant plus importantes que le secteur examiné est plus proche de l'autogreffe. Le derme est le siège d'une réaction inflammatoire massive et polymorphe avec exocytose et exosérose. On obtient une image de granulome à corps étranger dans le lit du greffon.

L'épiderme de l'autogreffe est en parfait état, mais son derme est envahi par une réaction inflammatoire intense surtout fibroblastique.

La vascularisation du derme de l'autogreffe est très abondante et active.

Au 11^e jour (5 cas), le rejet épidermique est constant, mais à des degrés variables ; il est d'autant plus complet que l'on est plus proche de l'autogreffe.

Le derme est le siège d'un infiltrat inflammatoire dense, polymorphe dans la partie superficielle, où les capillaires sont nécrosés. La réaction fibroblastique avec néovascularisation est intense au niveau du derme profond. Au niveau de l'autogreffe, l'épithélium est d'excellente qualité. Le derme est largement vascularisé. Il existe une réaction fibroblastique limitée du derme profond.

CHAPITRE II.

Influence des divers antimétabolites sur l'évolution des homogreffes

Historique.

Les phénomènes que nous venons d'observer lors du rejet des homogreffes cutanées existent identiques chez toutes les espèces animales et pour tous les organes étudiés. Ils ont permis d'imaginer différentes conceptions sur la nature de la réaction à l'homogreffe.

L'hypothèse de l'échec par défaut de vascularisation est à rejeter. Certains greffons tels ceux que l'on place dans la chambre intérieure de l'œil n'échouent que s'ils sont vascularisés (MEDAWAR, 1948). Par ailleurs, les faibles exigences métaboliques des cellules épidermiques ne concordent guère avec la nécrose rapide et totale de ces éléments à la fin de l'évolution des homogreffes.

L'hypothèse d'une relation entre la tolérance à la greffe et la compatibilité des groupes sanguins du donneur et de l'hôte n'a pas pu être vérifiée expérimentalement. En effet, des homogreffes entre individus dont les groupes sanguins sont compatibles sont aussi rapidement éliminés que des greffes entre individus de groupes non compatibles. (WOODRUFF et ALLAN, 1953). Par contre, il semble bien que les antigènes leucocytaires décelables par isoagglutinines immunes antileucocytaires existent aussi dans le rein et que le choix des combinaisons antigéniques entre receveur et donneur a pu expliquer le succès et la persistance des reins transplants (DAUSSET).

L'existence d'une longue période de latence exclut le rôle éventuel d'iso-anticorps « naturels » du type des iso-hémagglutinines. On admet à l'heure actuelle que la réaction à l'homogreffe est une réaction acquise de type immunologique.

Le rejet des homogreffes est considéré comme une réaction de type retardé, c'est-à-dire qu'elle est la manifestation finale de l'immunité. La suppression des réactions de type retardé par une lymphopénie spécifique résultant de l'injection de sérum anti-lymphocytes concorde bien avec les résultats obtenus par les méthodes qui déclenchent une lymphopénie de façon moins spécifique (rayons X, cortisone) et confirme le rôle des lymphocytes circulants ou des cellules mononucléaires essentiel dans le développement des réactions d'hypersensibilité retardée.

Il s'agissait de savoir si ces cellules participent à ces réactions comme l'élément primaire qui réagit avec l'antigène ou si elles répondent secondairement à un élément primaire inconnu. Divers travaux ont prouvé que ces cellules sont l'élément immunologique qui réagit avec l'antigène (WAKSMAN, 1961). On est arrivé aussi à ces conclusions par transfert de ganglions lymphatiques.

Les techniques actuelles qui facilitent la tolérance aux homogreffes et qui aboutissent même à une complète survie sont basées sur l'observation faite chez les jumeaux bovins dizygotiques (OWEN, 1945). La présence d'une chimère sanguine chez ces jumeaux qui étaient des parabiontes naturels, a conduit BURNET et FENNER (1949), à une interprétation immunologique de ces résultats. MEDAWAR et coll. (1958) ont montré que les greffes cutanées survivent indéfiniment chez ces animaux. La présence pendant la période fœtale ou néonatale des antigènes du donneur chez le receveur a conduit ce dernier à ne pas les reconnaître étrangers, mais à les accepter comme les siens propres, donc à ne pas les rejeter lorsqu'on les lui présente à nouveau, à l'état adulte.

La parabiose à l'état embryonnaire, réalisable entre embryons d'oiseaux réalise aussi un échange d'antigènes, mais de portée plus limitée. Les antigènes érythrocytaires qui interviennent surtout alors, ont un rôle plus discuté dans l'établissement de la tolérance.

Ces considérations permettent de rapprocher de ces techniques la pratique de l'exasanguinotransfusion pratiquée chez le nouveau-né victime d'une immunisation maternelle. On a pu se demander si l'enfant ainsi traité ne pourrait pas, par la suite, accepter une greffe du donneur du sang utilisé pendant l'exasanguino-transfusion.

L'irradiation massive d'un organisme, puis la greffe d'un organe et l'injection de moelle osseuse du même donneur, aboutissent également à des survies plus prolongées.

La première des techniques est inapplicable à l'homme. On ne peut songer à conditionner ainsi un individu dès la naissance, avec le risque que comporte la prolifération des cellules étrangères immunologiquement compétentes — tout ceci étant peut-être entrepris en vain si l'individu n'a jamais besoin de recevoir de greffe.

La deuxième technique est utilisée chez l'homme, lorsque l'on cherche à greffer des organes vitaux et que le donneur n'est pas antigéniquement identique au receveur. On court le gros risque de voir se développer la maladie appelée « runt disease » ou maladie du rabougrissement par suite de la prolifération des cellules de la moelle et de

la réaction de celles-ci vis-à-vis des antigènes de l'hôte : réaction greffe contre hôte qui se solde par le dépérissement de l'animal et la mort.

L'action favorable de divers antimétabolites sur l'évolution des greffes chez l'animal peut être attribuée soit à leur action lympholytique, soit à leur intervention dans la synthèse des protéines, notamment en inhibant la formation des anticorps.

SCHWARTZ (1959), SCHWARTZ, DAMESHEK et DONOVAN (1960) notent que l'administration de 6-mercaptopurine à la dose de 12 mg par jour peut tripler le temps de survie des homogreffes cutanées chez le lapin.

CALNE (1960) indique que la 6-mercaptopurine semble retarder le rejet des homogreffes rénales chez le chien. Cette technique est moins risquée que l'irradiation, mais peut favoriser la tendance à l'infection et causer une stase biliaire. Ce produit pourrait être favorable chez les malades urémiques chez lesquels les homogreffes sont mieux tolérées.

MEEKER, CONDIE et coll. (1959) notent également que la 6-mercaptopurine prolonge le temps de survie des homogreffes chez le lapin. Le traitement doit être prolongé pour maintenir la vitalité du greffon, mais la toxicité de la 6-mercaptopurine intervient alors.

KONG-Oo, MILLER et DIAMOND (1961) n'ont pas pu montrer que la survie d'une greffe peut être réalisée en utilisant la 6-mercaptopurine pour supprimer la formation des anticorps.

ROBINSON et CHRISTAN (1960) n'ont pas non plus réussi des homogreffes chez le lapin dans les mêmes conditions.

CALNE et MURAY (1961) ont essayé de prolonger la survie fonctionnelle des homogreffes rénales chez les chiens sous l'influence d'un traitement par des purines analogues à la 6-mercaptopurine, en particulier par un dérivé de l'imidazol, le 1 méthyl 4 nitro 5 imidazolyl thio-purine (« 322 ») (Burroughs Wellcome 57.322), composé au moins aussi actif que la 6-mercaptopurine et moins toxique vis-à-vis de la moelle osseuse. Néanmoins, ces deux substances augmentent la sensibilité à l'infection et ont un effet variable sur les homogreffes. Ceci pourrait être dû soit à des différences génétiques entre donneurs et receveurs, soit à des variations dans le métabolisme purique. Les animaux qui reçoivent en plus de l'actinomycine C, survivent en général plus longtemps, mais avec des fonctions rénales altérées.

Le Méthotrexate (ou Améthoptérine) favorisant l'infestation expérimentale des souris par le virus de la chorio-méningite lymphoïde, en affaiblissant les défenses de l'organisme. BROOKE (1960) a pensé l'utiliser pour diminuer la réaction de l'organisme à l'homogreffe, mais sans succès. UPHOFF qui avait noté en 1958 une modification de la réaction des homogreffes sous l'influence de l'Améthoptérine chez les souris irradiées léthalement et traitées par de la moelle homologue, discute le protocole et la valeur de l'expérimentation de BROOKE.

Les souris carencées en pyridoxine ont une diminution de la sensibilité à l'anaphylaxie, et du taux d'anticorps sérique. HARGIS, WYMAN et MALKIEL (1960) ont pu obtenir chez ces souris une augmentation de la survie des homogreffes. Si l'on pratique de plus une surrénalectomie chez les souris Swiss-Webster, la différence est alors moins nette entre le lot témoin et le lot carencé, que chez la souris non sur-

rénalectomisée. Lorsque les homogreffes sont réalisées entre souches différentes de souris, on ne note pas de différence ni entre les témoins et les animaux carencés, ni entre les animaux surrénalectomisés et les témoins. Par contre, la survie des homogreffes ne semble pas améliorée chez des hommes carencés en pyridoxine (FISHER, 1959).

SUTTON, GRIFFITH et PRESTON (1961), étudient l'influence de la cyclophosphamide, de la 6-mercaptopurine, du 5-fluorouracyl, et d'une combinaison de thioguanine et azasérine, sur la survie des homogreffes cutanées de la souris. La prolongation la plus grande s'observe chez les animaux traités avec la cyclophosphamide.

L'homogreffe de poulmon chez le chien traité au méthotrexate (BLUMENSTOCK, COLLINS, THOMAS et FERREBEE (1961) est rejetée parfois avec un léger retard par rapport aux homogreffes témoins, de plus, s'y associe un état de dénutrition sévère, en relation peut-être avec une posologie excessive — 4 animaux sur 11 survivants.

Résultats.

Nous avons voulu vérifier si l'action favorable de certains antimétabolites sur l'évolution des homogreffes pouvait également s'observer en utilisant d'autres composés.

Nous n'avons pas repris les expériences avec la 6-mercaptopurine, qui a été déjà largement expérimentée. Mais nous avons utilisé le 6870 RP (ou E 39), le Thiotépa, le Myleran et le Chloraminophène.

Nous avons modifié certains protocoles de façon à conserver l'amélioration parfois notée et éliminer les effets secondaires nuisibles. C'est ainsi que notre expérimentation s'est fragmentée en petits groupes, chacun correspondant à une posologie différente de l'antibiotique.

Dans les conditions les plus favorables, les cobayes traités au 6870 RP reçoivent deux injections de 0,2 mg et 7 injections de 0,1 mg après la greffe, par voie intrapéritonéale.

Le Thiotépa est injecté à la dose de 0,1 mg, par voie intrapéritonéale, une semaine avant la greffe et une semaine après.

Le Myleran est utilisé aux doses de 0,05 mg pendant 5 à 10 jours, avant et après la greffe.

Nous avons aussi essayé de traiter le greffon et non le porte-greffon et vice versa.

Le Chlorambucil est administré à la dose de 0,01 mg pendant 5 jours avant la greffe.

Dans l'ensemble, on le voit, les résultats ont été décevants, les différentes tentatives pour modifier les doses d'antimétabolites utilisés n'ont guère abouti :

Le Thiotépa s'est montré toxique, en provoquant d'importantes hémorragies au niveau du derme ou de l'épiderme.

Le Myleran n'empêche pas la nécrose du greffon.

Le 6870 R.P. favorise légèrement la survie du greffon quand les doses administrées sont assez faibles.

Conclusions.

Voulant confronter les effets des antimétabolites sur la formation des hétérohémagglutinines avec ceux sur d'autres systèmes immunologiques simples, nous avons été amenés à utiliser des homogreffes cutanées chez le cobaye.

Dans l'ensemble, même en utilisant des posologies très faibles, ces produits ne nous ont pas donné de résultats encourageants.

Le Thiotépa est toxique, et provoque des hémorragies au niveau du derme ou de l'épiderme.

Le Myleran n'empêche pas la nécrose du greffon.

Le 6870 R.P. favorise légèrement la survie si les doses sont faibles.

Le Chloraminophène a parfois un certain effet favorable.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Si les greffes représentent en pathologie humaine une question d'intérêt primordial, leur réalisation se heurte souvent aux difficultés qui découlent des réactions immunologiques. Les obstacles techniques sont liés à la nature du tissu greffé, mais les problèmes fondamentaux en rapport avec la non acceptation par l'organisme d'un matériel tissulaire étranger retiennent principalement l'attention. Le but des recherches immunologiques est donc de surmonter des obstacles ou de les minimiser par l'adoption de certaines conditions expérimentales. Nous nous sommes attachés à l'étude de cette question en nous adressant à trois systèmes particuliers.

I. — Dans la première partie de ce travail, nous avons utilisé la *parabiose*, réalisée expérimentalement entre animaux d'espèces différentes. Nous considérons ces parabioses comme constituant une large greffe d'un animal sur un autre. L'avantage de cette technique est que le greffon concerne sa propre irrigation. La mort n'est pas imputable à l'anoxie liée à l'interruption de la circulation mais aux effets toxiques liés aux phénomènes immunologiques.

a) *Evolution de la parabiose* et son incidence sur les constantes biologiques des animaux ainsi unis.

1) Les parabioses entre rat et cobaye et entre rat et mériion évoluent toujours spontanément vers la mort du cobaye ou du mériion et la survie du rat. 48 % des couples rat-cobaye survivent au 5^e jour et la courbe de la mortalité a une allure régulière ; dans le cas des couples rat-mériion, 85 % des mériions meurent entre le 5^e et le 6^e jour. Nous formulons l'hypothèse que le rat possède la faculté de s'immuniser plus vite et plus intensément contre les antigènes du cobaye ou du mériion, que ces derniers contre les antigènes du rat.

2) Afin de montrer la possibilité d'une immunisation d'un animal vis-à-vis de l'autre nous avons mis en évidence l'existence d'un échange de liquides (plasma ou liquide péritonéal) entre les deux animaux, au niveau de la cavité péritonéale, en vérifiant que la fluorescéine injectée à l'un diffuse chez l'autre.

3) La toxicité aiguë du sérum d'un animal d'une espèce, injecté par voie intrapéritonéale à un animal de l'autre espèce est nulle. La mort n'est donc pas attribuable à un choc sérique.

4) Les hétérohémagglutinines naturelles n'ont pas été décelées à un taux suffisant dans le sérum des animaux avant expérience, pour qu'on puisse les rendre responsables des lésions observées.

5) L'augmentation du titre en hétérohémagglutinines du sérum de rat mis en parabiose plus de 4 jours avec un cobaye est nette. L'in-

intervention de ces anticorps dans la pathologie de la parabiose est néanmoins discutée.

6) Une étude des données hématologiques d'une parabiose rat-cobaye évoluant spontanément ou d'une parabiose rat-mérion sous phénergan montre des variations peu nettes de la formule sanguine. Néanmoins, une hémolyse est toujours enregistrée. Mais ce ne sont pas toujours les animaux présentant l'anémie la plus accentuée qui meurent rapidement.

7) L'analyse électrophorétique des protéines des sérums des animaux en parabiose montre une diminution des albumines, une augmentation des globulines α 1 et 2 chez le rat et le mérion, α 1 et β chez le cobaye. Par contre, les γ globulines varient peu.

b) Influence de différents traitements sur l'évolution de la parabiose.

1) Lorsqu'on injecte au cobaye du polyoside préparé à partir d'organes de rat et du polyoside préparé à partir d'organe de cobaye au rat, puisqu'on met ces animaux en parabiose cinq jours après, on n'observe aucun décès pendant les quatre premiers jours. Ce résultat intéressant peut difficilement être interprété sans expériences complémentaires, qui seront instituées ultérieurement.

Notre hypothèse est qu'il s'agit d'un blocage momentané de la formation des anticorps.

2) Lorsqu'on immunise les cobayes vis-à-vis de globules rouges de rat avant de les mettre en parabiose avec des rats, la survie de 17 % des couples est prolongée de 4 jours.

Ceci montre que lorsque les cobayes sont préimmunisés, les antigènes et les anticorps du rat qui diffusent dans l'organisme du cobaye sont partiellement neutralisés par les anticorps anti-rat synthétisés par le cobaye.

3) Lorsqu'on associe préimmunisation et administration de substances polyosidiques, l'amélioration de la courbe de survie par rapport à la courbe témoin n'est que peu nette, ce qui pose évidemment des problèmes complexes.

4) Si l'on sépare les animaux après quatre jours de parabiose, on ne maintient vivants que ceux porteurs, à ce stade, de lésions peu importantes.

5) La cortisone administrée au rat quatre jours avant et un jour après la mise en parabiose, prolonge de trois jours la survie de 23 % des couples. Cet effet est dû au rôle dépresseur bien connu de la cortisone sur le système responsable de la synthèse des anticorps.

6) L'administration de Phénergan aux animaux rats-mérions en parabiose permet de doubler le taux de survie au 5^e jour et de prolonger de trois jours la survie des derniers couples. Le Phénergan agit ici en protégeant contre les effets toxiques de l'histamine libérée au moment de la réaction antigène-anticorps.

7) Lorsque le cobaye reçoit des gamma globulines d'origine humaine à forte dose, ce n'est qu'à partir du 6^e jour que la mort survient. Ce

résultat est très comparable à celui observé après administration de substances polysidiques ; il peut s'interpréter comme une fixation des gamma globulines non spécifiques au niveau des mêmes récepteurs cellulaires que ceux fixant les anticorps.

8) Les antimétabolites (Myleran administré au cobaye et Chloraminophène au rat) n'ont que peu d'influence sur l'évolution de la parabiose.

II. — Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons examiné si les substances antimétabolites réalisent toutes une inhibition de la synthèse anticorps et autres phénomènes immunologiques, et si cette propriété ne varie pas en intensité selon l'espèce animale.

1) Dans un premier temps, en utilisant le poulet comme animal d'expérience, nous avons étudié cinq antimétabolites, à action clinique certaine et à spécificité tumorale très diverse.

Nous avons observé que les animaux traités avec de la 6-mercaptopurine, du chlorambucil ou de l'actinomycine D, s'immunisent moins efficacement vis-à-vis de globules rouges humains que les témoins. Par contre, les animaux traités au Myleran ou au Thiotépa possèdent un titre en hétérohémagglutinines au 5^e jour largement supérieur à celui présenté par les témoins.

2) Nous avons vérifié chez le lapin, le rat et le cobaye que le traitement au Myleran et au Thiotépa agit en stimulant de la même manière que chez le Poulet la formation des hémagglutinines.

3) L'analyse électrophorétique des sérums des animaux immunisés et traités aux antimétabolites n'a pas permis de mettre en évidence des modifications quantitatives ou qualitatives importantes dans les différentes fractions protéiques, comme on aurait pu le supposer, connaissant l'intervention des antimétabolites dans la synthèse des protéines organiques.

III. — La dernière partie de notre travail a porté sur l'étude de l'efficacité de différents antimétabolites sur la survie des greffes, lors de conditionnement, non spécifique, du donneur ou du receveur.

Il s'agissait de greffes de peau de cobaye au cobaye dont on étudie le rejet à la fois macroscopiquement et histologiquement.

1) Au 8^e jour, les greffes témoins présentent des images de souffrance avec une congestion du réseau capillaire et une réaction inflammatoire importante. La nécrose atteint l'épiderme. Lorsque le cobaye reçoit un traitement au 6870 RP les greffes ont un aspect macroscopiquement satisfaisant au 8^e et 10^e jour ; mais à l'examen histologique, on constate des lésions vasculaires hémorragiques qui, si elles sont importantes (lorsque les doses utilisées sont plus fortes) empêchent la prise des greffons.

2) Par contre, le Thiotépa aux doses utilisées se montre très toxique.

3) Quant au Myleran, malgré diverses tentatives faites pour éliminer ses manifestations toxiques, il n'améliore pas de façon intéressante la survie du greffon.

4) Le Chloraminophène lui, a des effets irréguliers, parfois nuls, parfois légèrement favorables.

En conclusion, les parabioses se présentent comme des greffes hétérogènes pratiquées entre deux animaux. La fabrication d'anticorps est supérieure chez une espèce, le rat, par rapport à ce qu'elle est chez les autres, cobaye mériion.

Les antimétabolites n'ont pas influencé l'évolution du phénomène.

Dans le deuxième système hétérogène réalisé par injection à un animal des globules rouges d'une autre espèce, la formation des anticorps est stimulée par le Myleran et le Thiotépa. On a enfin constaté que les antimétabolites sont sans action nette sur les homogreffes de peau de cobaye au cobaye.

TABLEAU A.

Variations hématologiques observées au cours de la parabiose rat-cobaye.

		Globules rouges	Globules blancs	Lympho.	Neutro.	Eosino.	Baso.
GP 166	avant ...	4.926.000	6.560				
	2 ^e	4.875	40.200	27	73		
R 166	avant ...	6.815	14.760	70	24	6	
	2 ^e	6.960	8.600	86	14		
GP 167	avant ...	46.804	7.200	80	20		
R 167	avant ...	14.240	40.200	80	19	1	
	2 ^e	5.160	18.600	54	43	2	1
GP 168	avant ...	6.710	17.120	73	36	1	
	2 ^e	4.890	5.400	42	57		1
GP 168	avant ...	6.450	9.000	87	11	3	
	2 ^e	7.232		67	31	2	
GP 170	avant ...	4.880	2.200	47	52	1	
	2 ^e	—					
R 170	avant ...	6.840	15.280	94	6		
	2 ^e	6.160	25.000	46	54		
GP 171	avant ...	8.465	9.900	48	52		
	2 ^e	8.440	16.000	32	61		7
	4 ^e	5.170	3.800	54	39	4	3
R 171	avant ...	4.000	5.900	50	50		
	2 ^e	5.360	4.600	57	42	1	
	4 ^e	4.330	22.600	52	48		
GP 172	avant ...	5.110	5.600	35	63		2
	2 ^e	12.480	8.400	34	64		
R 172	avant ...	10.465	13.300	83	15	2	
	2 ^e	10.170	30.600	78	20	2	
GP 174	avant ...	10.672	9.200	49	50	1	
	2 ^e	6.070	10.400	43	50	7	
	4 ^e	7.480	9.800	40	58		2
R 174	avant ...	6.610	7.900	79	20	1	
	2 ^e	6.080	6.600	70	30		
	4 ^e	11.080	8.200	36	64		
	6 ^e	6.560	12.500	29	71		
GP 175	avant ...	6.425	4.100	52	48		
	2 ^e	4.170	8.400	46	46		8
	4 ^e	5.256	19.400	40	59	1	
R 175	avant ...	8.525	14.200	90	10		
	2 ^e	6.175	15.800	70	28		2
	4 ^e	7.375	14.800	42	57	1	
GP 176	avant ...	4.736	8.700				
	2 ^e	5.950	2.200	75	25		
R 176	avant ...	3.720	14.900	77	22	1	
	2 ^e	6.150	17.000	78	20	2	

TABEAU B.
Variations des protéines sériques au cours de la parabiose.

	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Durée de la parabiose	
I. — Parabiose Rat-Cobaye							
R. 83.....	33.4	19.8	18.8	19.9	8.1	4 ^e jour	
R. 85.....	32.3	15.2	18.2	21.6	12.7	4 ^e jour	
R. 86.....	29.7	17.6	19.4	18.1	15.2	4 ^e jour	
R. 87.....	32.8	19.4	25.4	15.7	6.7	4 ^e jour	
R. 92.....	35.6	24.3	17.0	16.2	6.9	5 ^e jour	
R. 73.....	27.2	18.0	19.6	21.2	14.0	6 ^e jour	
R. 88.....	19.7	27.1	15.3	30.3	7.6	6 ^e jour	
R. 89.....	25.3	28.2	12.9	24.3	9.3	6 ^e jour	
R. 90.....	29.8	23.9	20.3	18.9	7.1	6 ^e jour	
R. 91.....	27.8	25.1	9.6	27.8	9.7	6 ^e jour	
R. 92.....	35.6	24.3	17.0	16.2	6.9	6 ^e jour	
Valeurs moyennes	32.8	19.4	19.8	18.1	9.9	4 ^e et 5 ^e jour (5 animaux)	
	27.6	24.5	15.8	23.0	9.1	6 ^e jour (6 animaux)	
	Alb.	α_1	α_2	β	γ		
GP. 83.....	49.2	9.2	23.7	13.5	4.4	4 ^e jour	
GP. 85.....	27.6	18.6	18.8	23.6	11.4	4 ^e jour	
GP. 87.....	40.7	8.3	33.9	10.9	6.2	4 ^e jour	
GP. 73.....	38.1	6.2	38.8	10.0	6.9	6 ^e jour	
Valeurs moyennes	38.9	10.6	28.8	14.5	7.2	4 ^e à 6 ^e jour (4 animaux)	
	Alb. ₁	Alb. ₂	α_1	α_2	β	γ	
II. — Parabiose rat-merion							
R. 11 5 ^e j..	2.3	25.3	21.2	15.9	23.2	11.5	5 ^e jour
R. 12.....	4.7	35.8	16.4	12.9	25.4	4.8	«
R. 13.....	4.6	19.7	19.5	18.7	24.3	13.2	«
R. 14.....	3.1	30.2	10.3	13.7	39.3	3.4	«
R. 15.....	0.7	15.9	25.0	13.1	32.2	13.1	«
R. 16.....	2.9	33.0	20.0	9.4	23.2	10.9	«
Valeurs moyennes	3.0	26.6	19.0	14.0	27.9	9.5	5 ^e j (6 animaux)
	Alb. ₁	Alb. ₂	α_1	α_2	β	γ	
R. 8 avant.		30.4	2.6	8.6	31.7	6.7	
R. 8 7 j....	2.8	33.0	19.7	12.8	23.7	7.8	
M. 8 7 j....	3.0	41	18.1	10.4	17.8	9.7	
		28.4	11.6	20.6	31.2	9.2	

III. — *Parabiose et séparation :*
évolution de l'image électrophorétique chez le cobaye

	Alb.	α_1	α_2	β	γ	
GP 87...	40.7	8.3	33.9	10.9	6.2	après 4 j de parabiose
GP 87...	43.6	12.7	23.3	12.0	8.4	après 4 j et un jour de séparation
GP 85...	27.6	18.6	18.8	23.6	11.4	après 4 j de parabiose
GP 85...	41.7	10.4	20.4	17.2	10.1	après 4 j et un jour de séparation
GP 86...	47.0	6.4	23.0	13.6	10.0	après 4 j de parabiose
GP 86...	45.9	15.1	23.0	10.8	5.1	après 4 j et 3 jours de séparation
GP 86...	55.6	6.7	16.7	12.8	8.2	après 4 j et 7 jours de séparation

IV. — *Parabiose et séparation :*
évolution de l'image électrophorétique chez le rat

	Alb.	α_1	α_2	β	γ	
R. 69 ...	7,7	26,8	27,5	27,5	10,5	4 j de parabiose et 3 j de séparation
R. 87 ...	32,8	19,4	25,4	15,7	6,7	4 j de parabiose
R. 87 ...	37,8	18,1	15,8	21,2	7,1	4 j de parabiose et 3 j de séparation
R. 87 ...	19,9	25,0	16,1	31,5	7,5	4 j de parabiose et 1 j de séparation
R. 87 ...	24,2	18,9	10,4	35,0	11,5	4 j de parabiose et 7 j de séparation
R. 83 ...	33,4	19,8	18,8	19,9	8,1	4 j de parabiose
R. 83 ...	30,0	17,3	15,7	23,0	14,0	4 j de parabiose et 3 j de séparation
R. 83 ...	26,2	18,2	11,0	33,6	11,0	4 j de parabiose et 7 j de séparation
R. 86 ...	29,7	17,6	19,4	18,1	15,2	4 j de parabiose
R. 86 ...	24,2	25,3	13,9	27,9	8,7	4 j de parabiose et 3 j de séparation
R. 86 ...	23,0	18,3	21,5	23,7	13,5	4 j de parabiose et 7 j de séparation
R. 85 ...	32,3	15,2	18,2	21,1	12,7	4 j de parabiose
R. 85 ...	31,5	23,9	16,7	21,0	6,9	4 j de parabiose et 3 j de séparation
R. 84 ...	30,5	20,7	15,8	12,9	12,5	4 j de parabiose et 3 j de séparation
R. 84 ...	25,6	19,2	9,5	30,3	15,4	4 j de parabiose et 7 j de séparation

TABLEAU C.

*Variations hématologiques observées dans la parabiose rat-mérion
traitées par le Phénergan.*

[illegible]

TABLEAU D.

Variations des protéines sériques au cours des parabioses diversement traitées.

	Alb.	α_1	α_2	β	γ	
I. — Parabioses entre animaux recevant la substance polyosidique						
R. 52	22.0	26.2	18.3	24.5	9.0	5 ^e j
R. 65	35.5	12.9	27.7	14.8	9.2	7 ^e j
R. 53	20.3	19	27.0	25	9.7	6 ^e j
R. 51	30	23.8	7.4	29.8	9.0	7 ^e j
R. 63	44.7	15.1	10.0	21.4	8.8	5 ^e j
R. 62	32.4	13.4	19.8	19.8	14.6	9 ^e j
R. 64	42	14.3	13.4	21.2	9.1	7 ^e j
R. 38	30	23.3	16.4	18.7	11.6	5 ^e j
R. 37	35.3	20.1	9.5 + 7.7	13.5	13.9	6 ^e j
Valeurs moyennes	32.6	18.7	14.4	21.0	10.3	
		Albumine	α_1	α_2	β	γ
II. — Parabiose rat-cobaye immunisé avec du sang de rat						
GP118.....	11 ^e jour	37,3	10,1	35,6	8,7	8,3
R117.....	11 ^e jour	21,5	18,5	28,8	24,2	7,0
R117.....	11 ^e jour	31,4	20,5	22,0	25,5	0,6

TABLEAU E.
Valeurs des différentes fractions protéiques des animaux immunisés et traités par des antimétabolites.
Rats témoins.

	Alb.	α_1	α_2	β_1	β_2	γ	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Alb.	α_1	α_2	β_1	β_2	γ
Rats 21....	42,6	15	8,9	7,0	14,2	12,3						40,6	11,4	6,4	21,1	5,5	15,0
22....	43,0	11,4	5,8	9,0	15,4	15,4	35,1	21,0	8,8	24,6	10,5	56,0	15,1		20,4		8,5
23....	39,9	17,1	17,5	17,2		8,3	43,1	19,3	13,8	17,9	5,9	22,4	18,3	10,7	16,5	19,7	12,4
24....	36,2	12,8	17,2	22,5		11,3	40,1	15,7	6,1	6,8	12,7	38,4	13,6	6,4	26,6		15,0
25....	46,8	20,6	7,3	17,5		7,8						41,4	15,8	5,2	22,4		15,2
26....	41,1	12,4	5,8	26,4		14,3					38,2	13,2	6,2	23,4			19,0
27....	50,7	10,8		26,1		12,4					38,8	16,0	12,2	13,8			19,2
28....	50,3	13,9	23,8			10,0	45,5	18,1	8,3	19,4	8,7	39,6	16,5	6,3	23,5		14,1
29....	29,1	15,9	14,8	16,7		23,5	36,5	20,2	9,5	19,0	14,8	38,9	14,2	8,0	22,5		16,4
30....	43,5	18,5	24,5			13,5	24,3	13,7	30,9	23,0	8,1						
	42,3	13,0	9,8	22,0		12,9	37,4	18,2	12,9	21,6	10,1	39,4	14,3	7,4	24,0		14,9

Rats immunisés + Thiotepa.

	Alb.	α_1	α_2	β	β_2	γ	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Alb.	α_1	α_2	β	γ
Rats 41....	26,5						62,0	9,5	19,8		8,7	29,3	12,6	27,3	18,6	12,6
43....	42,0		7,0	12,7	19,9	22,1	30,6	17,1	25,8	12,9	13,6	27,5	10,6	13,9	30,3	17,7
44....		11,8	4,9	8,6	17,5	13,2	18,6	9,7	41,5	16,4	13,8	24,2	15,4	19,9	22,6	17,9
46....		13,8					18,3	19,4	23,3	17,2	21,8	35,4	17,3	10,1	8,3	14,8
47....	42,3	15,2	16,9	12,9		12,7	31,8	16,7	22,9	16,6	14,0	23,1	18,8	10,8	14,5	22,0
49....	24,6	19,2	11,5	7,0		17,5	32,8	18,3	7,8	27,0	14,1	27,3	28,7	8,1	22	10,8
				20,0												13,9
50....	34,4	15,7	24,9	15,0		10,0	39,0	8,6	19,9	15,7	16,8	37,5	12,2	15,4	23,2	11,7
	34,0	15,1	13,0	22,8		15,1	33,1	13,2	20,9	17,7	14,7	29,2	16,6	15,0	25,0	14,2

Rats Myleran.

	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Alb.	α_1	α_2	β	γ
Rats 31.	45,0	21,9	9,1	14,0	10,0	29,9	18,0	21,2	17,5	13,4	24,2	18,7	28,2	16,4	12,5
32.	42,1	7,6	7,7 15,3	13,1	14,2	24,2	14,2	28,0	20,3	13,3	24,5	18,1	17,1	22,2	18,1
33.	38,3	13,4	7,8 15,1	10,1	15,2	Hémolyse									
34.	34,5	15,1	18,4	16,2	15,8	36,6	12,7	10,8	20,6	19,8	26,6	17,2	19,9	8,5	4,8
35.	49,6	14,1	11,1	14,5	10,7	34,0	10	26,4	17,0	12,6	20,0	17,2	28,8	17,3	10,7
36.	43,4	17,3	6,3	22,0	11,0	21,2	17,8	22,8	20,4	20,4	17,8	15,2	19,9	21,2	20,3
38.	40,3	14,3	21,4	11,4	12,6	16,9	9,7	40,6	21,1	11,7	23,4	15,2	21,4	19,7	12,8
40.	37,1	17,5	24,8	12,9	7,7	Hémolyse									
	41,3	15,2	17,1	14,3	12,1	27,2	13,6	25,0	19,5	14,1	25,8	17,4	22,6	19,2	15,0

Lapins témoins.

	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Alb.	α_1	α_2	β	γ
Lapins 11	57,0	15,4		7,4	20,2						60,4	7,3	8,9	7,6	15,8
12	57,3	14,7		16,7	11,3	61,1	15,7		8,7	14,5					
13	64,7	9,2		8,5	17,6	57,5	14,8		8,5	19,2					
14	57,7	12,3		9,6	20,4						70,0		12,2	5,8	12,0
16						63,2	12,6		7,8	16,4	74,9		7,8	6,8	10,5
7						73,3	7,8		10,4	8,5	70,0		10,0	12,3	7,7
8						71,8	8,2		10,5	9,5	69,3		6,9	12,7	11,1
9						66,0	9,0		12,5	12,5					
10						65,0	15,8		9,6	9,6	59,7		14,1	11,5	14,7
	60,1	12,0		10,8	17,1	65,3	12,1		9,7	12,9	60,3		12,0	10,7	17,1

Lapins immunisés + Thiotepa.

	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Alb.	α	β	γ	Alb.	α_1	α_2	β	γ
Lapins 23.	58,0	9,1	4,4	10,5	18,0	57,2	10,1	7,1	25,6	56,1	8,3	1,9	12,5	21,2
24.	64,1	6,6	2,6	10,6	16,1	62,7	6,6	14,5	16,2	59,2	6,9	6,5	15,0	12,4
25.	57,7	5,4	2,4	10,3	24,2	53,1	6,6	13,9	21,2	53,4	6,7	3,4	12,2	24,3
26.	69,1	5,3	4,7	9,7	11,2	55,3	9,2	18,2	17,3	51	3,5	14,9	15,8	3,2
	65,3	5,5	5,1	5,1	15,2									11,6
27.	69,3	6,6	3,9	8,9	11,3	49,5	9,6	11,6	13,5	54,8	9,2	2,8	15,7	17,5
28.	45,9	4,8	26,1	11,6	11,6	68,9	5,8	9,3	12,8	58,6	6,4	7,0	13,2	14,8
	61,3	6,2	7,0	10,1	15,4	57,8	12,0	12,4	17,8	55,5	6,8	6,1	14,6	17,0

Lapins immunisés + Myleran.

	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Alb.	α_1	α_2	β	γ
Lapins 18.....	65,2	18,5		9,5	6,8	57,2	15,1		16,8	10,9	55,7	14,6		14,9	14,8
19.....	49,0	16,3		16,3	18,4	47,9	18,1		20,5	13,5	71,8	12,3		5,9	10
22.....						55,1	14,9		8,8	21,2	59,9	12,8		10,2	17,1
1.....	63,6	13,0		11,4	12	72,5	11,5		7,4	8,6					
2.....	72,6	10,3		7,7	9,4	51,6	16,5		15,4	16,5	55,0	17,2		11,5	16,3
3.....	58,4	13,2		10,7	17,7	14,9	10,0	13,8	12,2	16,1	61,7	3,5	6,7	12,6	15,5
	61,8	14,2		11,2	12,8	55,4	16,7		13,5	14,4	60,9	13,4		11,0	14,7

Cobayes témoins.

	Avant						48 ^e jour						23 ^e jour					
	Alb.		α_1		α_2		β		γ		α_1		α_2		β		γ	
GP 1....	59,0	5,1	19,1	9,5	7,3	52,0	4,8	24,1	8,0	11,1	52,2	4,8	25,6	6,7	10,7			
3....	60,0	5,0	18,6	5,4 + 3,7	7,3	47,0	3,4	31,0	6,1	12,5	54,9	3,6	26,0	6,9	8,7			
4....	50,6	7,6	21,2	8,9	11,7	50,0	5,5	26,1	7,9	10,5	45,2	6,1	29,3	8,9	10,5			
5....	52,4	7,1	23,8	9,1	7,6	49,7	8,6	25,7	7,7	8,3	41,0	4,7	33,8	11,1	9,4			
7....	64,3	4,5	18,7	6,8	5,7	51,2	4,1	26,0	8,3	10,4	57,0	4,3	22,3	6,0	10,4			
8....	60,1	2,5	21,0	4,2	4,2			Hémolyse		1,2								
9....	61,5	4,2	24,4	4,7	5,2	58,4	4,8	21	4,6		57,5	4,0	24,5	6,3	7,7			
	59,4	5,2	21,0	7,4	7,0	51,4	5,2	25,6	7,1	10,7	51,4	4,5	26,9	7,6	9,5			

Cobayes immunisés + Thiotepa.

	Alb.		α_1		α_2		β		γ		Alb.		α_1		α_2		β		γ	
GP 51...	56,0	8,3	17,4	10,1	8,2	52,1	12,2	17,4	7,7	10,6										
52...	48,9	5,8	27,7	8,8	8,8	65,9	3,4	22,4	4,0	4,3	53	3,3	26	4,5 + 3,7	9,5					
54...	59,3	6,3	20,2	7,7	6,5	50,8	4,6	24,6	6,5	13,5	54	5,8	19,9	7	13,3					
57...	54,4	4,8	19,6	12,4	8,8	50,2	4,6	28,2	7,4	9,6	46,9	5,5	27,3	7,1	13,2					
59...	60,1	4,2	18,4	7,7	9,6	64,8	3,2	16	3 + 3	10	51,2	4,1	26,3	10,2	8,2					
	55,7	5,9	20,7	9,3	8,4	56,8	5,6	21,7	6,3	9,6	51,3	4,6	24,9	8,1	11,1					

Cobayes immunisés + Myleran.

	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Alb.	α_1	α_2	β	γ	Alb.	α_1	α_2	β	γ
GP61.	72,0	4,4	15,9	6,0	1,7	52,4	4,6	27,4	5,2	10,4	52,5	7,2	21,5	8,7	10,1
65.	57,5	4	21,5	9,3	7,7	55	3,6	22,5	8,9	10	59,4	6,7	19,3	7,9	6,7
66.	56,3	7,1	21,3	6,7 + 4,7	3,9	52,8	3,8	23,6	6,4	13,4	42,2	8,1	32,8	6,9 + 3,4	6,6
	50,6	4,7	23,0	12,0 + 3	6,7										
69.	48,3	4,8	21,9	15,8	9,2	52	3,5	27,3	7,1 + 5,3	4,8	54,9	5,6	26,5	5,6 + 3,2	4,2
	43,6	5,2	22,4	7,9 + 6,4	14,5										
68.						50,8	5	33,2	5	6					
	54,7	5,0	21,0	12,0	7,3	52,6	4,1	26,8	7,6	8,9	52,3	6,9	25,0	8,9	6,9

BIBLIOGRAPHIE.

- BERENBAUM, M. C. — Effect of Cytotoxic Agents on Antibody Production. *Nature* (London), 1960, 185, 167-168.
- BLUMENSTOCK, D. A., COLLINS, J. A., THOMAS, E. D., FERREBEE, J. W. — Homotransplantation of the Lung in Dogs treated with Methotrexate. *Surgical Forum*, 1961, 12, 121-122.
- BROOKE, M. S. — Failure to influence antibody production and skin graft rejection with Methotrexate — (amethoterin). — *Transpl. Bull.*, 1960, 26, 453.
- BURNET, F. M. et FENNER, F. — The production of Antibodies. Melbourne, 1959.
- CALNE, R. Y. — The rejection or renal homografts. Inhibition in dogs by 6 mercaptopurine. *Lancet*, 1960, 1, 417-418.
- CALNE, R. Y. et MURRAY, J. E. — Inhibition of the rejection of renal homografts in dogs by Burroughs Wellcome 57.322. *Surgical Forum*, 1961, 12, 118-120.
- CHUTE, R. N. et SOMMERS, S. C. — Hemolytic disease and polycythemia in parabiosis intoxication. *Blood*, 1952, 7, 1005.
- DRESSER, D. W. — Specific inhibition of antibody production. I Protein-overloading paralysis. *Immunol.*, 1962, 5, 161-168.
- EICHWALD, E. J., LUSTGRAAF, E. C., FUSON, R. B. et PFAFF, J. P., Jr. — The anemia of parabiotic intoxication. *Ann. New York Acad. Sc.*, 1960, 87, 119.
- EICHWALD, E. J., LUSTGRAAF, E. C., FUSON, R. B. et WEISSMAN, I. — Parabiotic Anemia-Polycythemia. *Soc. Exp. Biol. Med.*, 1961, 106, 441-443.
- ENSELME, J., TIGAUD, H., COTTET, J. et LAMBERT, R. — Recherches électrophorétiques sur les protéines du sérum de rats en parabiose. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, Paris, 1955, 37, 587-600.
- FETON, L. D. et OTTINGER, B. — Pneumococcus Polysaccharide as a Paralyzing Agent on Mechanism of Immunity in White Mice. *J. Bacteriol.*, 1942, 43, 94-95.
- FELTON, L. D., KAUFFMAN, G., PRESCOTT, B. et OTTINGER, B. — Studies on the Mechanism of the Immunological Paralysis induced in Mice by Pneumococcal Polysaccharides. *J. Immunol.*, 1955, 74, 17.
- FINE, J. M. et AUDRAN, R. — Les substances de groupes sanguins A et B. I. Activité immunologique de polyosides purifiés d'origine animale. *Transfusion*, 1951, 2, N° 1, 57.
- FINERTY, J. C. — Parabiosis in Physiological Studies. *Physiol Reviews*, 1952, 32, 277-302.
- FINERTY, J. C. et PANOS, T. C. — Parabiosis intoxication. *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med.*, 1951, 76, 833-835.
- FISHER, B. — Skin homografts in pyridoxine-deficient Humans. *Transplant. Bull.*, 1959, 6, 432-433.
- FUSON, R. B. — Bibliography of Parabiosis. *Transpl. Bull.*, 1961, 27, 111-117.
- GORDON, J. — The prevention of delayed hypersensitivity to homologous serum and transplantation antigens in Guinea Pigs. *Immunol.*, 1962, 5, 153-160.
- HALL, C. E. et HALL, O. — Categories of parabiotic intoxication ; further evidence that the condition results from unequal cross transfusion. *Am. J. Physiol.*, 1956, 184, 155.
- HALL, C. E. et HALL, O. — The haematological changes in parabiosis intoxication. *The Lancet*, 21 mai 1960, N° 7134, p. 1127.
- HALL, C. E., LEWIN, W. C. et HALL, O. — Blood proteins and their distribution in Rats with parabiosis intoxication determined by paper electrophoresis. *Pros. Soc. Exper Biol. et Med.*, 1957, 96, 780.

- HALPERN, B. N. — Sur une nouvelle fonction des gamma globulines. Leur action protectrice contre les phénomènes d'hypersensibilité. *Presse médicale*, 1961, 69, n° 46, 1991-1994.
- HARGIS, B. J., WYMAN, L. C. et MALKIEL, S. — Skin transplantation in pyridoxine deficient mice. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 1960, 16, 276-287.
- JANKOVIC, B. D., ISAKOVIC, K. et HORVAT, J. — Tolérance immunitaire chez le Poulet obtenue avec des ribonucléoprotéines hétérologues. *Revue franç. d'études cliniques et viol.*, 1960, 5, n° 10, 1012-1013.
- KARIN, B. B. — Reciprocal Blood Exchange in Parabiosed Albino Rats. *Am. J. Physiol.*, 1958, 194, n° 3, 507-511.
- KAMRIN, B. B. — The use of globulins as a means of including acquired tolerance to parabiotic union. *Am. New York Acad. Sc.*, 1958, 73, 848.
- KONIECZNA-MARCZYNSKA, B. et SKOWROW-CENDRZAK, A. — Haematological and Serological Investigations In Heteroparabiosis. *Experientia*, 1960, 16, 463-464.
- KONG-OO GOH, MILLER, D. G. et DIAMOND, H. D. — An investigation into the use of 6 mercaptopurine to induce immunological tolerance. *J. Immunol.*, 1961, 86, N° 6, 606-612.
- LIACOPOULOS, P. — Inhibition des réponses immunologiques après administration de doses élevées d'une protéine hétérologue. *Cr. Acad. Sci. Paris*, 1961, 253, 751-753.
- MAC GILLIVRAY, M. H. et TOKUDA, S. — Parabiotic Intoxication. I Blood Volume, total circulating red cell mass and Fe⁵¹ uptake. *Transpl. Bull.*, 1962, 29, N° 2, 83-95.
- MATHE, G. et AMIEL, J. L. — La greffe. Aspects biologiques et cliniques, 1962.
- MEDAWAR, P. B. — The Harvey Lectures, 1958.
- MEEKER, W., CONDIE, R., WEINER, D., VARCO, R. L. et GOOD, R. A. — Prolongation of skin homograft survival in rabbits by 6 mercaptopurine. *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med. N. Y.*, 1959, 102, 459-461.
- MILGROM, E., GOLEBIOWSKA, J. et KIELCZEWSKA, H. — Studies on parabiosis. I. Effect of antihistaminics. *Arch. Immunol. Ter. Dosw. Wazsawa*, 1955, 3, 393.
- OWEN, R. D. — Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science*, 1945, 102, 400-401.
- ROBINSON, J. L. et CHRISTIAN, C. L. — 6 mercaptopurine in immunological responsiveness. *Nature* (London), 1960, 187, n° 4739, 796-797.
- SCHEFF, G. J. et PLAGGE, J. C. — Use of fluorescein in testing the union of parabiotic rats. *Proc. Soc. Exper. Biol.*, 1955, 88, 559.
- SWHARTZ, R. — The effect of 6 mercaptopurine on transplantation immunity. 7th European Congress Hematology, London, 1959.
- SCHWARTZ, R., DAMESHEK, N. et DONOVAN, J. — The effect of 6 mercaptopurine on homograft reaction. *J. Clin. Invest.*, 1960, 39, 952-958.
- SCHWARTZ, R., EISNER, A. et DAMESHEK, W. — The effect of 6 mercaptopurine on primary and secondary immune response. *J. Clin. Invest.*, 1959, 38, n° 8, 1394-1403.
- SIMONSEN, M. et CHRISTENSEN, R. — Heteroplastic parabiotic intoxication antibody formation. Treatment with antihistaminics. *Acta Pathol. et Microbiol. Scand.*, 1950, 27, 325-337.
- SUTTON, W. R., GRIFFITH, H. B. et PRESTON, F. W. — Effect of cancer chemotherapeutic agents on the survival of homografts of skin. *Surgical Forum*, 1961, 12, 117-118.
- UPHOFF, D. E. — Alteration of homograft reaction by A methopterin in lethally irradiated mice treated with homologous marrow. *Proc. Soc. Exper. Biol. N. Y.*, 1958, 99, 651-653.
- WAKSMAN, B. H., ARBOUYS, S., ARNASON, B. G. — The use of specific « lymphocyte » antisera to inhibit hypersensitive reactions of the « delayed » type. *J. exper. Med.*, 1961, 114, n° 6, 997-1022.
- WOODRUFF, M. F. A. et ALLAN, T. M. — Blood groups and the homograft problem. *Brit. J. Plast. Surg.*, 1953, 5, 238.

DEUXIÈME THÈSE.

Propositions données par la Faculté :

Récentes acquisitions
sur le rôle du thymus en immunologie

Vu et approuvé :

Paris, le 3 Mars 1964.

Le doyen de la Faculté des Sciences,

MARC ZAMANSKY.

VU

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

JEAN ROCHE.

Achevé d'imprimer le 15 mai 1964.

M. DECLUME, imprimeur Lons-le-Saunier - 215-64-100.
Mai 1964 « Dépôt légal 2^e trimestre 1964 - N° 5525 ».

Printed in France.